

Aus der II. Medizinischen Klinik der
Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. P. Schölmerich

SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER
ANTIGAMMAGLOBULINFAKTOREN BEI LEBERERKRANKUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
Uwe Hopf
aus Leipzig

Mainz 1967

1968

Aus der II. Medizinischen Klinik der
Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. P. Schölmerich

SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER
ANTIGAMMAGLOBULINFAKTOREN BEI LEBERERKRANKUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
Uwe Hopf
aus Leipzig

Mainz 1967

Dekan: Prof. Dr. Dr. Thews

Referent: Priv.-Doz. Dr. Dr. Meyer zum Büschenfelde

Korreferent: Prof. Dr. Schölmerich

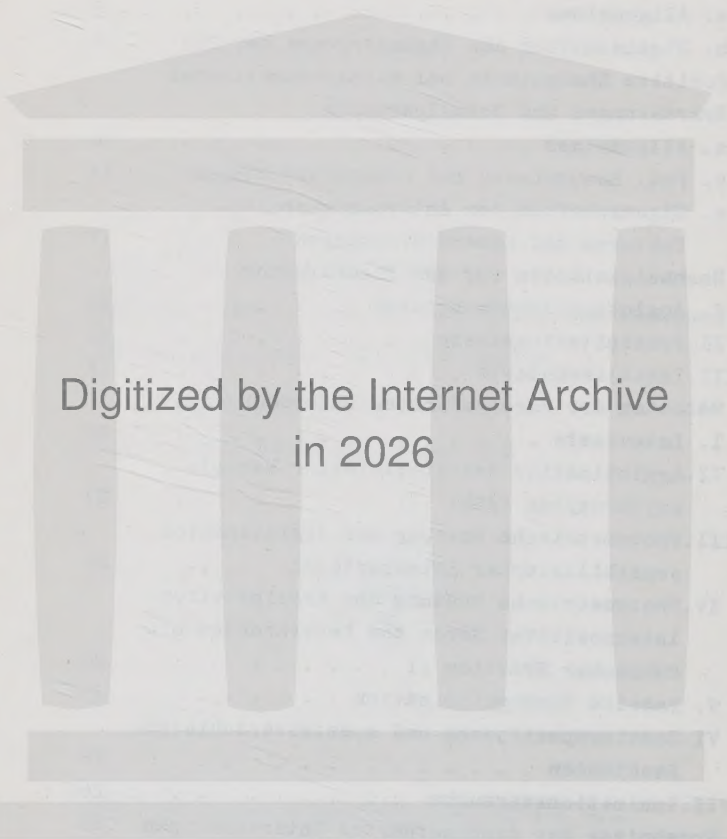
Tag der mündlichen Prüfung: 11. Mai 1968



Herstellung: R. Schwarzbald, 5301 Witterschlick b. Bonn

INHALTSVERZEICHNIS:

	Seite
A. Einleitung	1
B. Historisches über den Rheumafaktor	
a. Allgemeines	3
b. Eigenschaften des Rheumafaktors der PCP	4
C. Positive Rheumatests bei nichtrheumatischen Erkrankungen und Normalpersonen	
a. Allgemeines	10
b. Pos. Rheumatests bei Lebererkrankungen	15
c. Eigenschaften der Antigammaglobulin- faktoren bei Lebererkrankungen	17
D. Nachweismethoden für den Rheumafaktor	
I. Agglutinationsreaktionen	19
II. Präzipitationstests	21
III. Inhibitionstests	22
E. Methoden der durchgeführten Untersuchungen	
I. Latextests	22
II. Agglutination sensibilisierter Hammel- erythrozyten (ASH)	23
III. Photometrische Messung der Agglutination sensibilisierter Latexpartikel	24
IV. Photometrische Messung der Präzipitation latexpositiver Seren von Leberkranken mit Cohnscher Fraktion II	24
V. Passive Haemagglutination	25
VI. Speziespezifische und speziesverschiedene Reaktanden	26
VII. Inhibitionsversuche	26
F. Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen	28
G. Diskussion	56
Zusammenfassung	66
Literaturverzeichnis	68



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554813_0039

A) Einleitung:

Unter Antigammaglobulinfaktoren (AGF) faßt man eine Gruppe von Serumfaktoren mit Antigammaglobulineigenschaften zusammen. Diese Faktoren sind bisher bei einer Reihe von internen Erkrankungen nachgewiesen worden. Hierher gehören die primär chronische Polyarthrititis (PCP) (Literatur siehe unten), akute und chronische Hepatitis und Lebercirrhose (Bonomo, Lospalluto u. Ziff 1963; Atwater u. Jacox 1963; Lindner et al. 1962; Weinreich u. Kühn 1965; Klosterkötter, Manitz u. Strobel 1962), Syphilis (Peltier u. Christian 1959), akute Tuberkulose (Singer et al. 1962), Silikose (Klosterkötter u. Nolte 1960), Sarkoidose (Kunkel, Simon u. Fudenberg 1958), bakterielle Endocarditis (Williams u. Kunkel 1962), Lupus erythematosus (Meyer zum Büschenfelde, Gamp u. Schilling 1965), Periarteriitis nodosa (Alexander u. de Forest 1954; Müller 1962), Caplan-Syndrom (Dickmans u. Fritze 1959), sowie Morbus Bechterew, Fibrositis, Arthrosis und Spondylosis (Miehlke, Kruppa u. Schimanski 1960). Eine besondere diagnostische Bedeutung besaßen bisher lediglich die Antigammaglobulinfaktoren (AGF) der PCP. Je nach angewandter Methode waren in 60 - 90 % der Fälle AGF bzw. sogenannte Rheumafaktoren (RF) nachweisbar (Jacobson et al. 1957; Miehlke u. Schimanski 1959; Kleine, Müller u. Matthes 1958; Singer u. Plotz 1956; Mannik, Brine u. Clark 1958; Müller 1962; Hall, Mednis u. Bayles 1958;

Heller et al. 1955; Singer u. Plotz 1958). In neuerer Zeit schenkt man AGF, die als krankheitsunspezifische Antikörperphänomene auftreten, in wachsendem Maße Beachtung, da sich herausstellte, dass diese AGF neben einigen differenten Eigenschaften auch dem Rheumafaktor verwandte Merkmale aufweisen. Andererseits ist bekannt, dass der Rheumafaktor selbst keine einheitliche Fraktion darstellt (Bonomo, Lospalluto u. Ziff 1963; Lospalluto u. Ziff 1959; Williams u. Kunkel 1963).

Bei den nichtrheumatischen Erkrankungen mit derartigen serologischen Faktoren stehen die Lebererkrankungen im Vordergrund. Mit einfachen Reaktionen lassen sich AGF in unterschiedlichem Prozentsatz nachweisen (Literatur siehe Seite 15). Über ihre Eigenschaften sowie ihre diagnostische Erfassung bzw. Abgrenzung vom Rheumafaktor der PCP existieren bisher nur wenige Untersuchungen (Howell, Malcolm u. Pike 1960; Dresner u. Trombly 1959; Bonomo, Lospalluto u. Ziff 1963).

Die vorliegende Arbeit soll zur diagnostischen Charakterisierung von AGF bei Lebererkrankungen beitragen.

B) Historisches über den Rheumafaktor

a) Allgemeines:

Ein Zusammenhang zwischen PCP und erhöhten Agglutinationstitern im kaninchenambozeptor - sensibilisierten Hammelerythrozytentest (ASH) wurde erstmals im Jahre 1940 von Waaler beschrieben. Der Autor bezeichnete die immunologisch aktive Serumkomponente als "agglutination activating factor" und ordnete sie den Globulinen zu. Bereits 1922 hatte Meyer über die gleiche Erscheinung bei Seren von Lebercirrhose- und Bronchitispatienten berichtet. Auf die differentialdiagnostische Verwertbarkeit des Rheumafaktors wurde von Rose, Ragan, Pearce und Lipman (1948) hingewiesen. Der haemagglutinierende Effekt des Rheumafaktors auf haemolytische Streptokokken, der 1930 von Cecil, Nicholls und Stainsby beobachtet wurde, scheint unspezifischer Natur zu sein und besitzt deshalb hinsichtlich der Ätiologie der PCP beschränkten Aussagewert.

Die frühere Annahme einiger Autoren (Hobson u. Gorril 1952), es handle sich beim Rheumafaktor um einen Bestandteil des Komplementsystems, konnte nicht mehr aufrechterhalten werden, nachdem man die Faktoreigenschaften mit anderen Methoden untersucht hatte. Laurell und Grupp (1958) zeigten, dass zwischen keiner der bisher bekannten Komplementfraktionen und dem Rheumafaktor eine Identität besteht. Die Diskussion, ob Properdin oder Conglutinin mit dem Rheumafaktor in Beziehung stehen könnten, wurde dahingehend beendet, dass Properdin eine andere Spezifität

besitzt (Laurell u. Grupp 1958), nämlich zu Polysaccharidantigenen, und Conglutinin mit einem Immunkomplex erst dann reagiert, wenn sich bereits Komplementbestandteile angelagert haben, wie die Untersuchungen von Marks und Coombs (1957) ergaben.

b) Eigenschaften des Rheumafaktors der PCP:

Müller - Eberhard (1959) trennte mit der Zonenzentrifugationstechnik das Gammaglobulin des Gesunden in zwei Fraktionen mit den Sedimentationskonstanten von 7 S und 19 S (Svedberg-Einheiten). Im Serum der PCP fand er zusätzlich die 22 S - Fraktion, die nach Behandlung mit 3 - 6 m Harnstofflösung in eine 19 S- und eine 7 S- Komponente dissoziierte. Das Mengenverhältnis der beiden Anteile betrug 1 : 4. Wurde der Rheumafaktor mit denaturiertem Gammaglobulin präzipitiert und das Präzipitat anschliessend mit 3 - 6 m Harnstofflösung dissoziiert, so lag ein Mengenverhältnis der 19 S- zur 7 S - Fraktion von 1 : 8 vor. Demnach reagiert der Rheumafaktor mit dem 7 S - Globulin des eigenen Serums und mit zugesetzten löslichen Gammaglobulinaggregaten. Wie die Dissoziationsversuche zeigen, scheint die Bindung locker zu sein und einer Gleichgewichtsreaktion mit den noch vorhandenen 7 S - Globulinen zu unterliegen. Elektrophoretisch gewonnenes Gammaglobulin aus Normalseren bildet keine Präzipitate, da es wahrscheinlich keine Aggregate enthält.

(Franklin, Holman, Müller - Eberhard u. Kunkel 1957). Kunkel und Franklin (1966) wiesen darüberhinaus nach, dass der Rheumafaktor ein typisches 19 S - Globulin ist, das in seinen chemischen, physikalischen und immunologischen Eigenschaften der normalen 19 S- Fraktion stark ähnelt. Der isolierte 19-S-Rheumafaktor bildet mit nativer Cohn'scher Fraktion II (CF-II) einen löslichen Komplex. Es besteht also auch eine gewisse Affinität zum niedermolekularen Gammaglobulin (Edelmann, Kunkel u. Franklin 1958). Im Ouchterlony - Diffusionstest ließ sich zwischen der normalen 19 S-Fraktion und der des Rheumafaktors kein Unterschied feststellen (Kunkel, Franklin u. Müller - Eberhard 1959). Es sind bis heute zwischen den beiden Fraktionen überhaupt keine physikalischen und chemischen Differenzen bekannt (Müller - Eberhard, Kunkel u. Franklin 1957). Müller - Eberhard (1959) vermutete, dass gegenüber normalem 19 S - Gammaglobulin beim 19 S -Rheumafaktor eine Spaltung von intramolekularen Disulfidbrücken eingetreten ist. Mit der Depolymerisierung des 19 S - RF in 7 S - Einheiten verschwindet die serologische Aktivität vollständig (Franklin, Kunkel, Müller - Eberhard u. Holman 1957).

Lospalluto und Ziff (1959) isolierten in der Anionenaustauscherchromatographie aus dem Rheumafaktorpräzipitat eine Fraktion, die zu 95 % aus 19 S- Globulinen bestand und die gesamte Rheumafaktoraktivität enthielt. Die restlichen 5 % waren 7 S-Globuline. In der Kationenaustauscherchromatographie liess sich die gerei-

nigte 19 S - Fraktion des Rheumafaktors in zwei Komponenten zerlegen. Die eine wurde im pH 6,5 eluiert und reagierte in allen Tests, also Latextest, Präzipitationstest und Waaler-Rose-Test (Typ Aggregatbildung). Bonomo et al. (1963) hatten diese Fraktionen in der Säulenchromatographie ebenfalls isoliert. Die andere Komponente, die mit Latex agglutinierte und präzipitierte, aber nicht im Waaler-Rose-Test reagierte, wurde im pH 7,0 abgetrennt (Typ Gammaglobulin).

Williams und Kunkel (1963) isolierten in der Säulenchromatographie drei verschiedene Fraktionen des Rheumafaktors, die genau mit den immunologischen Typen übereinstimmen, die von Milgrom und Witebsky (1960) gefunden wurden. Den Säulen waren zur Absorption aktiver Serumkomponenten native oder aggregierte Cohn'sche Fraktion II oder Kaninchengammaglobulin eingegeben worden. Die erste isolierte Fraktion zeigte eine Spezifität gegenüber Kaninchengammaglobulin, die zweite gegenüber humanem Gammaglobulin.

Immunelektrophoretisch wiesen Cleve und Hartmann (1957) bei der PCP Veränderungen im Beta - Gamma - Bereich und eine Makroglobulinvermehrung nach. Die von Müller - Eberhard und Kunkel (1961) mittels Ultrazentrifuge gefundene Verstärkung der Gamma - 1 M - Makroglobulinfraktion bei etwa 50 % der PCP - Seren entspricht dem immunelektrophoretischen Befund.

Nach Vaughan (1962) reagiert der Rheumafaktor mit Antigen - Kaninchenantikörperpräzipitaten, während Präzipitate vom Pferd oder Meerschweinchen mit dem Rheumafaktor keine Bindung eingehen. Mit gereinigtem Human-Diphtherietoxoid - Antitoxin - Präzipitat konnte die gesamte Rheumafaktoraktivität absorbiert werden (Aho u. Simons 1963). Bei Zugabe von fremdem Gammaglobulin zeigte sich eine kompetitive Inhibition gegenüber dem spezifischen Präzipitat und zwar auffälliger im Test mit sensibilisierten Humanerythrozyten als im Waaler-Rose-Test. Ein Unterschied zwischen Gm (a-) - und Gm (a+) - Präzipitat bestand in der geringen Absorption von Anti - Gm (a) - Aktivität durch das Gm (a-) - Präzipitat pro Gewichtseinheit. Die Bindung des Rheumafaktors mit Präzipitaten weist eine veränderliche Intensität auf (Dissoziation bei RF - Überschuß) und wird damit dem echten Antikörperverhalten nach der Heidelberger Kurve vergleichbar.

Von Deicher (1964) wurde die Frage untersucht, ob der Rheumafaktor mit verschiedenen tierischen Gammaglobulinen reagiert. Dabei benutzte er zur Sensitierung der Hammelerythrozyten Gammaglobulin von Ratte, Schaf, Pferd, Rind und Mensch. Es zeigte sich deutlich, dass die Reaktionsweise des Rheumafaktors nicht speziesspezifisch ist. Die Agglutinationstiter jeweils eines Serums bewegten sich mit den verschiedenen Reaktanden bis auf wenige Ausnahmen etwa auf der gleichen Höhe. Es wurde kein Rheumaserum beobachtet, das mit tierischem und nicht mit humanem Gammaglobulin

reagierte. Zur Inhibition benutzte Deicher hitzeaggregiertes humanes Gammaglobulin. Dabei zeigte sich, dass sämtliche Haemagglutinationsreaktionen von dem humanen aggregierten Gammaglobulin bei einer Konzentration von 0,6 mg/ml Lösung inhibiert wurden. Nur wenige Seren wiesen noch geringe Titer auf.

Unter den Angaben der positiven Rheumateste bei der PCP bestehen im Schrifttum erhebliche Differenzen, die auf der unterschiedlichen Spezifität der einzelnen Methoden und unterschiedlichen Serumvorbehandlungen beruhen. Die Agglutination ambozeptorsensibilisierter Hammelerythrozyten (Waller-Rose-Test) wird zwischen 62 % und 90 % positiv angegeben (Jacobson et al. 1956; Svartz 1959; Scheiffarth 1959; Bartfeld, Mahood u. Hartung 1958; Miehle, Krupp u. Schimanski 1960; Miehle u. Schimanski 1959). Der Inhibitionstest nach Ziff (1956) gilt bis heute als spezifischster Rheumatest und liefert bei der PCP nach eigenen Angaben des Autors in 84 % positive Ergebnisse, die Agglutination sensibilisierter ORh - Erythrocyten in 72 % (Svartz u. Schlossmann 1955). Die Kältepräzipitation nach Christ et al. (1961) stellt ein weiteres Verfahren dar, die spezifische Erfassung des RF zu erhöhen (in 95 % positiv). Vergleichbare Resultate erbrachte die Grenzschichtreaktionsmethode nach Kleine, Müller u. Matthes (1958).

Der Latex - Fixationstest wurde im Jahre 1956 von Singer und Plotz entwickelt. Die native Latexsuspension wird in einer Gammaglobulinlösung sensitiert und anschließend der Serumverdünnungsreihe zugegeben. Der Latextropfentest

und der Latex - Fixationstest werden heute in den Kliniken routinemäßig durchgeführt. Es muß jedoch erwähnt werden, dass die Sensitierungsmaterialien und deren Konzentrationen den Test beeinflussen (Mannik, Brine u. Clark 1958) und dass die Fertigreagenzien unterschiedliche Empfindlichkeit besitzen. Im Durchschnitt kann der positive Latex-Test für die PCP mit 70 - 80 % angesetzt werden (Singer u. Plotz 1956; Mannik, Brine u. Clark 1958; Hall, Mednis u. Bayles 1958; Müller 1962). Eine Variation der Originalmethode, die von Singer und Plotz (1958) selbst angegeben wird, besteht in der vorherigen Ammoniumsulfatfraktionierung des Patientenserums (The one - tube - test) und soll den positiven Prozentsatz von 71 % auf 90 % erhöhen. Heller et al. (1955) erreichten den gleichen Effekt mit der Kälte - Alkohol - Fraktionierung.

C) Positive Rheumateste bei nichtrheumatischen Erkrankungen und Normalpersonen

a) Allgemeines:

Als man besonders den Latex - Test (Cohn'sche Fraktion II=CF II -haltige Systeme) in der Klinik routinemäßig durchführte, stellte sich heraus, dass in einem relativ hohen Prozentsatz sogenannte "falsch positive" Ergebnisse auftraten. Es wurde von zahlreichen Autoren untersucht, welchen Krankheitsformen eine bestimmte Häufigkeit der "falsch positiven" Latex - Teste zuzuordnen ist. Den ersten Platz nehmen dabei eindeutig die Lebererkrankungen ein. Die Zahlenangaben über die positiven Rheumateste differieren einmal stark hinsichtlich der einzelnen Erkrankungen und zum anderen hinsichtlich der angewandten Methoden. Einen Überblick über die Ergebnisse bei Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises bringt die folgende Tabelle 1.

Außer bei den rheumatischen Erkrankungen einschließlich der sogenannten Kollagenosen fanden Peltier und Christian (1959) den CF II - sensitierten Schafzellentest in 11 % positiv bei Syphilis, Dickmans und Fritze (1959) den Latexfixationstest in 50 % positiv bei Silikose mit Rundherden und Müller (1962) den Waaler-Rose-Test in 12 % bei Sepsis lenta und in 8,2 % bei Lungentuberkulose. Auch das Serum von Sarkoidosepatienten zeigt diese Eigenschaft bei Anwendung des Latextests in 10 % der Fälle (Kunkel, Simon u. Fudenberg 1958).

Mittels Ultrazentrifugation wiesen Kunkel, Simon u. Fudenberg (1958) bei einem solchen Fall mit hohem AGF -Titer im Latextest eine 22 S - und eine 19 S - Fraktion in ähnlicher Weise wie bei der primär chronischen Polyarthritiden nach. Die Euglobulinfraktion war jedoch entgegen der rheumatischen in Kochsalz unlöslich und reagierte nicht im Waaler-Rose-Test, analog der Euglobulinfraktion bei Kala azar. Die Autoren führen diese Eigenheit auf einen bei PCP und Lebererkrankungen differenten Antigenstimulus zurück.

In einer umfangreichen Untersuchung von 5 461 Normalpersonen prüften Waller, Toone und Vaughan (1964), in welcher Häufigkeit positive Waaler-Rose-Tests, positive Latextests und Agglutination sensibilisierter Humanerythrozyten vorliegen. Im Waaler-Rose-Test waren 0,18 % positiv, im Latextest 4,1 % und die sensibilisierten humanen Erythrozyten agglutinierten in 2,4 %. Rasse (Neger oder Weiße) und Geschlecht hatten auf das Ergebnis keinen Einfluß. Mit steigendem Alter war jedoch ein deutlicher Anstieg der positiven Testreaktionen zu verzeichnen, wobei sich der Latextest als besonders sensibel erwies. Bei genauer Anamnese der Normalpersonen stellte sich heraus, dass 5,4 % möglicherweise eine symptomarme PCP und 29 % nichtrheumatische Erkrankungen hatten. Bei 66 % der Gesamtzahl konnten keine Krankheiten eruiert werden.

Heimer, Levin u. Rudd (1963) befassten sich speziell mit der Altersabhängigkeit des positiven Rheumatests. Das Untersuchungsmaterial wurde zu diesem Zweck in vier

Gruppen unterteilt: 1. Personen zwischen 65 und 93 Jahren, 2. Chronische Polyarthritiker im gleichen Altersintervall, 3. Chronische Polyarthritiker unter 65 Jahren und 4. Gesunde unter 65 Jahren. Die erste Gruppe zeigte im Latex - Test mit Hyland-Reagenz 46 % positive Ergebnisse. Es trat dabei in 40 % ein Prozonophänomen auf. Die drei bis sechs Monate später wiederholten Tests ergaben keine Veränderung. Die Gruppe der jüngeren Normalpersonen war nur zu 4 % im Latex-fixationstest positiv, ein Wert, der mit den Angaben von Waller, Toone u. Vaughan (1964) übereinstimmt. Erhitzen der Seren auf 53°C 30 Min. und auch auf 63°C 10 Min. hatte keine bedeutende Titeränderung zur Folge. Erst bei 68°C nahm die Aktivität rapide ab. Bei der Präzipitation mit aggregiertem Gammaglobulin entstanden bei den Seren der älteren Normalpersonen Präzipitattmengen, die etwa in der Mitte derer der jüngeren Normalpersonen und der Polyarthritiker lagen. Interessanterweise reagierte der Faktor der älteren Normalpersonen nur zu 2 % im Waaler-Rose-Test. Arnon, Vargues u. Lechevallier (1961), die den Latexfixationstest bei Normalpersonen über 60 Jahren in 17,6 % positiv fanden, beobachteten beim Waaler-Rose-Test einen gleichen Effekt. In diesem Sinne äußern sich auch Lawrence, Lane u. de Graaf (1961). In der isolierten Euglobulinfraktion war der Faktor enthalten. Mit nativem Gammaglobulin kam es nicht zur Präzipitation.

Während Waller, Toone u. Vaughan (1964) die Erscheinung der relativ häufigen positiven Rheumatests bei älteren Personen darauf zurückführten, dass im Alter verständlicherweise eher Erkrankungen auftreten, sehen Heimer, Levin u. Rudd (1963) die Hauptursache in den altersbegründeten Degenerationsprozessen. In diesen Bereich gehören auch die degenerativen Gelenkveränderungen und arteriosklerotischen Prozesse, die in einer großen Zahl der untersuchten Personen nachgewiesen werden konnten.

Tabelle 1 (aus Miehlike, Kruppa u. Schimanski 1960)

Diagnose	Fallzahl	Tests	% positiv	% negativ
Primär	87	SEA	63	37
chronische	238	HEA	69,5	30,5
Polyarthrititis	236	LFT	77	23
	241	LTT	86,4	13,6
Morbus	12	SEA	58,4	41,6
Bechterew	34	HEA	41,2	58,8
	37	LFT	32,2	67,8
	39	LTT	33,2	66,8
akute und	5	SEA	40	60
subakute	16	HEA	31,5	68,5
Polyarthrititis	19	LFT	0	100
	19	LTT	15,8	84,2
Fibrositis	7	SEA	28,8	71,2
	21	HEA	19	81
	20	LFT	20	80
	22	LTT	41	59
Arthrosis und	16	SEA	37,6	62,4
Spondylosis	41	HEA	19,5	80,5
	44	LFT	13,6	86,4
	45	LTT	35,6	64,4
Silikose	42	SEA	33,2	66,8
	93	HEA	16,1	83,9
	93	LFT	18,2	81,8
	93	LTT	29	71
Kontrollfälle	47	SEA	38,2	61,8
	151	HEA	12,6	87,4
	145	LFT	11	89
	158	LTT	27,1	72,9

SEA: Agglutination sensibilisierter Schafserthrozyten,

HEA: Aggl. sens. Humanerythrozyten, LFT: Latexfixationstest,

LTT: Latex - Tropfentest.

b) Positive Rheumateste bei Lebererkrankungen

Von den nichtrheumatischen Erkrankungen, bei denen positive Rheumateste vorkommen, werden im Schrifttum die Lebererkrankungen mit Übereinstimmung an erster Stelle genannt. Die prozentualen Angaben differieren allerdings stark (Daikos, Klontzas u. Athanasiadou 1959; Fellmann u. Enderlin 1961; Matthies u. Fürnrohr 1962; Müller 1962). Mehrere Autoren differenzieren in ihren Untersuchungen die einzelnen Lebererkrankungsformen nach dem Auftreten der Antigammaglobulinfaktoren. Dabei zeigt sich, dass Lebererkrankungen, die mit starker Bindegewebsbildung einhergehen, also besonders die Zirrhose und chronische Hepatitis, häufiger dieses serologische Phänomen aufweisen als die akute Hepatitis. Lindner und Mitarbeiter (1962) untersuchten 250 Seren leberkranker Patienten mit dem Latextest. Es handelte sich dabei um Fälle mit Verschlusikterus, Fettleber, Zirrhose, chronischer und akuter Hepatitis. Positive Ausfälle des Latextestes lagen bei der Leberzirrhose in 46 %, bei chronischer Hepatitis in 43 %, bei akuter Hepatitis in 6 % und beim Verschlusikterus in keinem Falle vor (Tab. 2 auf Seite 16). Klosterkötter, Manitz u. Strobel (1962) geben die Häufigkeit positiver Latexteste bei Leberkrankheiten mit cirrhotischem Umbau mit 50 % an, alle anderen Lebererkrankungen mit 3,5 % (siehe Tabelle 3 auf Seite 16). Die Diagnosen waren bioptisch, laparoskopisch oder operativ gesichert worden.

Tabelle 2 nach Untersuchungsergebnissen von
Lindner et al. (1962)

	Ergebnisse im Latextest		Summe
	positiv	negativ	
Lebererkrankungen mit zirrhotischem Umbau	57	69	126
Lebererkrankungen ohne zirrhotischen Umbau	5	119	124
zusammen	62	188	250

Tabelle 3 nach Untersuchungsergebnissen von
Klosterkötter, Manitz u. Strobel (1962)

	Ergebnisse im Latextest		Summe
	positiv	negativ	
Lebererkrankungen mit zirrhotischem Umbau	16	16	32
Lebererkrankungen ohne zirrhotischen Umbau	1	20	21
zusammen	17	36	53

Aus den Versuchen von Kühn und Weinreich (1964) ist ebenfalls zu entnehmen, dass bei chronischen Hepatitiden und Leberzirrhosen, die "piecemeal" Nekrosen im Sinne Poppers aufweisen, der Latextropfentest häufig positiv ausfiel. Von 100 untersuchten Leberseren waren 52 positiv. Atwater und Jacox (1963) geben den positiven Latextest mit 42 % für die Virushepatitis, für die Zirrhose mit 60 % und für die Leberneoplasien mit 80 % an. Diese Werte stimmen etwa mit denen von Howell, Malcolm und Pike (1960) überein, deren positive Tests bei aktiven, progressiven Lebererkrankungen erhoben wurden. Nach chemotherapeutischer Behandlung erfolgte ein Titerabfall. Dresner und Trombly (1959) verzeichnen einen positiven Latextest bei der Hepatitis in 37 %, bei der portalen Zirrhose in 25 %, bei der biliären Zirrhose in 28 % und einen positiven Inhibitionstest (nach Ziff et al. 1956) bei Seren Leberkranker in 71 %. Schließlich erhielten Dobias, Szecey und Bozsoky (1962) für die chronische Hepatitis einen Wert von 70,5 % bereits bei Krankheitsbeginn. In den passiven Haemagglutinationstesten ist die Reaktionshäufigkeit des Leberfaktors bedeutend geringer. Werte von 10 % positive Waaler-Rose-Tests (Klosterkötter, Manitz u. Strobel 1962) müssen als obere Grenze betrachtet werden.

c. Eigenschaften der Antigammaglobulinfaktoren bei Lebererkrankungen

Analog den Rheumafaktoruntersuchungen von Müller - Eberhard (1959) versuchten Howell, Malcolm und Pike (1960),

im Serum von Leberzirrhosepatienten mit der Ultrazentrifugation einzelne Fraktionen abzutrennen. Dabei stellte sich heraus, dass die gesamte Antigammaglobulinaktivität in der 19 S - und 22 S - Fraktion lokalisiert war. Den gleichen Befund geben Dresner und Trombly (1959) an. Howell und Mitarbeiter (1960) wiesen nach, dass die abgetrennte 19 S- Fraktion, die den "Leberfaktor" enthielt, mit einem normalen, von Aggregaten gereinigten 7 S - Globulin reagiert. Die von Deicher (1964) und Bonomo et al. (1963) vertretene Ansicht, nur der echte Rheumafaktor reagiere im Waaler-Rose-Test, wird nicht von allen Autoren geteilt (Dobias, Szecey u. Backhausz 1961; Bouchier, Rhodes u. Sherlok 1964; Eaton, Murphy u. Hanford (1944)). Es sei hier vermerkt, dass in unseren Untersuchungen die Seren von Leberkranken eine Waaler-Rose-Test-Aktivität nicht häufiger als Seren des Normalkollektivs besaßen.

Die säulenchromatographischen Untersuchungen von Bonomo, Lospalluto und Ziff (1963) haben gezeigt, dass die bei PCP - Patienten im pH 6,5 eluierbare Fraktion in Seren von Leberkranken nicht nachweisbar war. Da diese Fraktion angeblich als einzige der drei abgetrennten Waaler-Rose-Test-Aktivität besitzt, muss deren Fehlen für die auffällige Differenz in den Prozentzahlen des positiven Waaler-Rose-Test verantwortlich gemacht werden.

D) Nachweismethoden für den Rheumafaktor

Es gibt eine Vielzahl von Methoden, den Rheumafaktor serologisch nachzuweisen. Generell lassen sich sämtliche Methoden den Agglutinationsreaktionen oder den Präzipitationsreaktionen zuordnen. Von den Bakterienagglutinationen abgesehen, macht man sich die Eigenschaft des Rheumafaktors zunutze, mit humanem und tierischem Gammaglobulin Aggregate zu bilden. Trifft der Rheumafaktor auf der Ouchterlonyplatte mit Gammaglobulin zusammen, kommt es zur Präzipitation, läßt man das Gammaglobulin auf größere Partikel, auf Erythrozyten, Latexteilchen oder andere, so wird bei Zugabe des RF eine Agglutination makroskopisch sichtbar. Auf diesen beiden Prinzipien basieren die gebräuchlichsten Nachweisreaktionen in zahlreichen Variationen.

In der folgenden Übersicht werden die bisher bekannten Nachweismethoden des Rheumafaktors aufgeführt:

I. Agglutinationsreaktionen

1. Haemagglutinationsreaktionen

- a) mit Schafererythrozyten nach Sensibilisierung mit homologem Immunserum aa) ohne vorherige Absorption des Serums von Heteroagglutininen (Originalmethode nach Waaler 1940 sowie Rose et al. 1948) bb) nach vorheriger Absorption der Heteroagglutinine (Modifikation nach Heller, Jacobson u. Kolodny 1949; Svartz u. Schloßmann 1955).

- b) mit Erythrozyten anderer Tiere, z.B. Huhn, Ratte, Maus, Meerschweinchen, Rind, Ziege, Alligator, Krokodil nach entsprechender Sensibilisierung mit homologen Immunseren,
- c) mit menschlichen Erythrozyten nach Sensibilisierung mit homologen Immunseren, inkompletten Immunisoantikörpern oder inkompletten Wärmeautoantikörpern (W. Müller 1962),
- d) mit Schafserythrozyten, die nach Tanninvorbehandlung mit Gammaglobulin beladen wurden (CF II-Test nach Heller et al. 1955),
- e) mit Erythrozyten, die mit Bakterienantigenen beladen sind.

2. Die Bakterienagglutinationsreaktionen

- a) Die Streptokokkenagglutinationsreaktionen
 - aa) L - Streptokokkenagglutination
 - bb) O - Streptokokkenagglutination
- b) Die Agglutination von Bakterien (z.B. Brucellen), die mit inkompletten Antikörpern sensibilisiert sind.

3. Die Agglutination gammaglobulinbeladener, biologisch
inert, Partikel

- a) der Latexfixationstest mit seinen Modifikationen
- b) der Bentonittest
- c) der Kollodiumtest
- d) der Quarzflockungstest
- e) der Acrylfixationstest
- f) der Mastixfixationstest.

II. Präzipitationstests

1. Quantitative Tests:

- a) Die Bestimmung des Stickstoffgehaltes des bei der
Reaktion zwischen Gammaglobulin und Patientenserum auf-
tretenden Präzipitates.
- b) Die Grenzschichtreaktion mit menschlichem und tierischem
Gammaglobulin.

2. Qualitative Tests:

- a) der Röhrchentest
- b) der Kapillartest
- c) die Ouchterlonyplatte

III. Inhibitionstests

- a) der Inhibitionstest nach Ziff et al. (1956)
- b) der Inhibitionstest mit Latexpartikeln
- c) der Inhibitionstest mit Hilfe der Grenzschichtreaktionen.

E) Methoden der durchgeführten Untersuchungen

- Übersicht über die Methoden -

I. Latextests

- a. Latextropfentest
- b. Latexfixationstest

II. Agglutination sensibilisierter Hammelerythrozyten (Waler-Rose-Test)

III. Photometrische Messung der Agglutination sensibilisierter Latexpartikel

IV. Präzipitationstest

V. Passive Haemagglutination

- a. mit nativem Reaktanden
- b. mit aggregiertem Reaktanden
- c. mit Reaktanden verschiedener Spezies

VI. Inhibitionsversuche

- a. mit nativem Reaktanden
- b. mit aggregiertem Reaktanden
- c. mit Reaktanden verschiedener Spezies

zu I.: Für den Latextropfentest stand das Reagenz der Hyland Laboratories zur Verfügung. Ein Tropfen einer nativen

Serumverdünnung 1 : 20 in Puffer (Glycine Saline Buffer Diluent for Latex - Agglutination Tests) wurde auf Objektträgern mit 1 Tropfen des Latex - Reagenz gut durchmischt. Nach 1 Minute erfolgte die Ablesung. Zeigte die 1 : 20 Serumverdünnung ein positives Ergebnis, wurde anschließend eine geometrische Verdünnungsreihe in entsprechender Weise (Latexfixationstest) getestet.

zu II.: Die Agglutination sensibilisierter Hammelerythrozyten (Waalser-Rose- Test) : 0,5 ml des inaktivierten Patientenserums wurden zur Absorption von Heteroagglutininen mit 0,5 ml einer 10 %igen Hammelerythrozytensuspension versetzt (Variation nach Svartz und Schloßmann 1955), 1 Stunde bei 37°C im Wasserbad inkubiert und über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt. Am nächsten Tag erfolgte die Zentrifugation (3 000 U/Min. 5 Minuten). 0,25 ml des Überstandes dienten zur Herstellung einer Verdünnungsreihe von 10 Röhrchen in 0,25 ml physiologischer Kochsalzlösung bis zum 9. Röhrchen. Anschließend wurden 0,25 ml ambozeptor-sensibilisierte Hammelerythrozyten (Behring-Werke Marburg) zugegeben. Das 10. Röhrchen diente als Kontrolle und wurde deshalb mit nativen Hammelerythrozyten (Behring-Werke) versehen. Nach einstündiger Inkubation im Wasserbad (37°C) konnte der Ansatz am nächsten Tage nach Aufbewahrung bei 4°C abgelesen werden. Die Reaktion galt als positiv ab einem Titer von 1: 32.

zu III.: Zur photometrischen Untersuchung der Agglutination sensibilisierter Latex - Partikel wurden Serumverdünnungsreihen für folgende Ansätze hergestellt: 1. Patientenserum nativ; 2. Patientenserum inaktiviert (56°C 30 Min.); 3. Patientenserum inaktiviert (56°C 30 Min.) und normales Nativserum; 4. Patientenserum inaktiviert und Meerschweinchenkomplement; 5. Patientenserum erhitzt auf 62°C 10 Minuten; 6. Patientenserum erhitzt auf 62°C 10 Minuten und normales humanes Nativserum; 7. Patientenserum erhitzt auf 62°C 10 Minuten und Meerschweinchenkomplement. In 0,2 ml des Hyland-Puffers (Glycine Saline Buffer Diluent) wurden 0,2 ml der Patientenserumverdünnung 1 : 5 überpipettiert. Nach Beschicken der Röhrchen mit 0,2 ml Latex - Reagenz (Hyland) erfolgte der Komplementzusatz in Form von 0,01 ml nativem normalem Humanserum bzw. Meerschweinchenkomplement. Nach einer Reaktionsdauer von 2 - 3 Minuten wurde die Extinktion bei einer Wellenlänge von 546 m μ (Eppendorf - Photometer) gemessen. Eine zweite Messung schloß sich nach einer Zentrifugation von 1 000 U/Min. 5 Minuten (Christ - Zentrifuge) an.

zu IV.: Zur photometrischen Messung der Präzipitation latexpositiver Seren von Leberkranken mit Cohn'scher Fraktion II (CF II) dienten folgende Versuche: Mehrere Verdünnungsreihen mit steigenden Konzentrationen nativer und aggregierter Cohn'schen Fraktion II (62°C 10 Min.) wurden in der Weise hergestellt, dass das erste Röhrchen von zwölfen 0,9 mg CF II/1

Serumverdünnung (1 Teil Serum + 7 Teile Phosphatpuffer) und das letzte 10,8 mg CF II/ml Serumverdünnung enthielt. Die Lösung der einzelnen CF II-Mengen erfolgte in 3,5 ml Phosphatpuffer (mit unter V. beschriebener Zusammensetzung) und 1,5 ml n/100 HCl. Für die eine Hälfte des Versuchsansatzes wurde natives und für die andere inaktiviertes Patientenserum verwendet. Die Ablesung fand nach Inkubation (37°C) von 20 Minuten bei einer Wellenlänge von 553 m μ (Eppendorf-Photometer) statt.

zu V.: Passive Haemagglutination (P.H.): Orh - Erythrozyten wurden nach dreimaligem Waschen in physiologischer Kochsalzlösung (Zentrifugation jeweils 5 Minuten bei 3 000 U/Min. Christ - Zentrifuge) nach der Boyden-Methode (1951) tanniert: 5 ml 0,85 %ige NaCl-Lösung, 5 ml Phosphatpuffer (1,45 g KH₂PO₄; 7,60 g Na₂HPO₄ x 2 H₂O; 4,80 g NaCl ad 1 000 ml; pH 7,4) 10 ml Tanninsäurelösung (1 mg Tanninsäure pro 40 ml 0,85 %ige NaCl-Lösung) und 0,2 ml gewaschenes Erythrozytensediment. Nach 10 Minuten Inkubation im Wasserbad bei 37°C erfolgte Zentrifugation (5 Min. 1 000 U/Min.), einmalige Waschung in Phosphatpuffer und Sensitierung. Die Gammaglobulinlösung zur Sensitierung bestand aus 5 mg nativer bzw. aggregierter CF II (Hyland Laboratories), 1 ml n/100 HCl und 2 ml Phosphatpuffer. 2,4 ml dieser Lösung, 1,2 ml physiologischer NaCl -Lösung und 0,05 ml tannierte Erythrozytensediment wurden 10 Min. bei Zimmertemperatur stehengelassen und danach abzentrifugiert

(5 Minuten 1 000 U/Min.) Man wusch das Erythrozytensediment in 3,5 ml einer 1 %igen inaktivierten Kaninchen-serumlösung und suspendierte es in 2,5 ml der gleichen Lösung. 0,25 ml Patientenserum wurden zur Herstellung einer Verdünnungsreihe von 9 Röhrchen in 0,25 ml physiologischer Kochsalzlösung verwendet und anschließend mit 0,25 ml der sensitisierten Erythrozytensuspension beschickt.

Folgende Kontrollen liefen bei jedem Versuchsan-satz mit: Unsensitierte Erythrozyten und Patientenserum, unsensitierte Erythrozyten und Normalserum, sensitisierte Erythrozyten und Normalserum, untannierte Erythrozyten und Patientenserum, sensitisierte Erythrozyten und physiologische Kochsalzlösung. Die Reaktion galt als positiv ab einem Ti-ter von 1 : 8. Alle Versuche wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und nach 18 Stunden abgelesen.

zu VI.: Die Reaktionen des Faktors mit CF II verschiedener Spezies: Die Herstellung der Verdünnungsreihen, Tannierung und Sensitierung der Erythrozyten erfolgte nach der unter V. beschriebenen Methode. Zur Sensitierung dienten CF II von Mensch, Kaninchen, Pferd, Rind und Schaf (Substanzen von Hyland GmbH München Travenol). Der Versuch galt als positiv ab einem Titer von 1 : 8.

zu VII.: Inhibitionsversuche in Anlehnung an Heller und Mitarbeiter (1955): Als Inhibitionsmaterial diente native und aggregierte (62°C 10 Minuten) humane CF II in Konzentra-tionen von 0,6 bzw. 1,8 mg/ml Lösung (1,8 bzw. 5,4 mg CF II, 2 ml Phosphatpuffer, 1 ml n/100 HCl).

Der Versuchsansatz (Methoden im einzelnen wie unter V. beschrieben) stand eine Stunde bei 37° im Wasserbad, bevor der sensitivierte Erythrozytenzusatz erfolgte. Eine Inhibition wurde dann registriert, wenn eine Differenz von mindestens zwei Titerstufen im Vergleich zum Normalansatz vorhanden war.

F) Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen

I. Untersuchungsergebnisse mit dem Latextest (Tropfen - und Fixationstest): Wie Tabelle 4 auf Seite 29 zeigt, wurden 169 Seren von Patienten mit verschiedenen Lebererkrankungen getestet. Bei 73 Patienten (43 %) fiel der Latextest mit einem Titer von mehr als 1 : 20 positiv aus. Entsprechende Untersuchungen an 68 klinisch gesunden Blutspendern boten ausnahmslos ein negatives Ergebnis. Der parallel dazu durchgeführte Waaler-Rose-Test (ASH) ergab bei den Lebererkrankungen nur in 8 Fällen (4,8 %) einen Titer von mehr als 1: 32, so dass er bei einem Vergleich mit den Befunden bei der PCP als negativ angesprochen werden mußte. Der Waaler-Rose-Test war bei den Blutspendern auch stets negativ. Vergleicht man die Zahlen dieser Ergebnisse untereinander, sowie mit entsprechenden Befunden bei der PCP (Literatur auf Seite 8 und Meyer zum Büschenfelde - persönliche Mitteilungen) so fällt auf, dass der Latextest bei Lebererkrankungen gut halb so häufig positiv ist wie bei der PCP. Verglichen mit einem Normalkollektiv lässt sich ebenfalls ein Unterschied sichern. Stellt man die Waaler-Rose-Test-Ergebnisse von Normalkollektiven Patienten mit Lebererkrankungen bzw. PCP gegenüber, so sagen diese einfachen Zahlen, dass sich die Seren Leberkranker von den Seren PCP-Kranker in ihren Reaktionen im Waaler-Rose-Test wesentlich unterscheiden, von Normalkollektiven jedoch nicht eindeutig abheben.

Tabelle 4: Vergleichende Darstellung der Latex- und Waaler-Rose-Test-Ergebnisse von Seren PCP- und Leber-kranker, sowie von Seren unselektierten Patientengutes der Klinik außer PCP und Normalpersonen (dabei handelte es sich um Blutspender bei der Mainzer Blutbank).

Gruppe	Fall- zahl	Latextest		Waaler-Rose-Test	
		positiv	in %	positiv	in %
PCP- kranke	165	134	81	111	67 +)
Leber- kranke	169	73	43	8	5
Unselektier- tes Patienten- gut	200	24	12	7	4 +)
Normal- personen	68	-	-	-	-
zusammen	602	231	38	126	21

+) Diese Befunde wurden im serologischen Labor der II. Medizinischen Klinik mit den gleichen Methoden gewonnen. Die Angaben über den positiven Waaler-Rose-Test im unselektierten Patientengut beziehen sich auf die Routinediagnostik.

II. Ergebnisse der photometrischen Messung sensitierter Latexpartikel: Bei der Suche nach einer Erklärung der oben aufgeführten Ergebnisse und Differenzen zwischen verschiedenen Typen von Antigammaglobulinfaktoren (Lebererkrankungen und PCP) wurde zunächst die Temperaturabhängigkeit der Faktoraktivität im Latextest geprüft. Dabei wurde der in Methode III. angegebene Versuchsansatz gewählt. Die Tabelle 5 auf Seite 32 bringt ein klassisches Experiment dieser Art. Ein hochtitriges Serum eines PCP - Patienten sowie ein entsprechend hochtitriges Serum eines Leberpatienten wurden jeweils im Vergleich mit dem negativen Kontrollserum getestet. Die Tabelle zeigt, dass der Rheumafaktor der PCP nach Inaktivierung bei 56°C 30 Minuten seine nahezu volle Aktivität behielt, wohingegen entsprechende Faktoren im Leberserum durch Hitzeinaktivierung bei 56° C 30 Minuten komplett inhibierbar sind. Diese Inhibition lässt sich weder durch Zugabe von Meerschweinchenkomplement noch durch Zugabe eines komplementhaltigen normalen humanen Nativserums aufheben. Anders sind die Verhältnisse beim PCP - Serum, wo die Zugabe von Meerschweinchenkomplement zum inaktivierten Serum in einigen Fällen eine deutliche Steigerung der Reaktion, die an der gebildeten Präzipitatenmenge photometrisch gemessen wurde, erkennen lässt. Erhitzen der Seren auf 62°C 10 Minuten führt auch bei Seren der PCP - Patienten zu einer fast vollständigen Inaktivierung der Antigammaglobulinfaktoren.

Diese Experimente wurden an 15 mit im Rheumafaktor - Latextest positiven Seren Leberkranker, sowie 15 seropositiven Patienten mit PCP durchgeführt. Abweichungen von dem beschriebenen Ergebnis lagen in keinem Fall vor.

Tabelle 5: Photometrische Messung der Agglutination sensibilisierter Latexpartikel.

a) Serum eines Patienten mit PCP

x) Verd.	Extinktionen							
	LW	naS	56°	56°+Ø	56°+C'	62°	62°+Ø	62°+C'
1:5	2,0	0,06	0,080	0,091	0,095	1,525	1,50	1,43
1:10	2,0	0,19	0,060	0,070	0,022	1,720	1,78	1,84
1:20	2,0	0,21	0,320	0,045	0,016	1,840	1,80	1,90
1:40	2,0	0,33	1,000	0,100	0,136	1,890	1,90	1,97
1:80	2,0	0,68	1,575	0,490	0,256	1,940	1,90	1,98
1:160	2,0	1,34	1,685	1,030	0,636	1,930	1,89	1,97
1:320	2,0	1,67	1,900	1,250	0,720	1,940	1,89	1,99
negative Kontrolle								
1:20	2,0	1,95	1,98	1,80	1,98	1,97	1,99	1,95

b) Serum eines Patienten mit Leberzirrhose

Verd.	Extinktionen							
	LW	naS	56°	56°+Ø	56°+C'	62°	62°+Ø	62°+C'
1:5	2,0	0,46	1,98	1,76	2,00	1,93	1,97	1,96
1:10	2,0	1,36	1,97	1,89	1,90	1,99	1,96	1,99
1:20	2,0	1,77	1,98	1,91	1,89	1,92	1,94	1,97
1:40	2,0	1,90	1,98	1,80	1,95	1,92	1,99	1,95
1:80	2,0	1,95	1,98	1,78	1,87	1,90	1,98	1,95
1:160	2,0	1,95	1,98	1,80	1,89	1,92	2,00	1,98
1:320	2,0	2,00	1,97	1,81	1,90	1,90	1,97	1,99
negative Kontrolle								
1:20	2,0	1,98	1,80	1,98	1,98	1,97	1,99	1,99

x) Verd. = Verdünnungsgrad des Patientenserums

LW = Leerwert

naS = natives Patientenserum

Ø = natives, latextest-negatives Humanserum

C' = Meerschweinchenkomplement

56° bzw. 62° = Patientenserum erhitzt auf 56°C 30 Min.
bzw. 62°C 10 Min.

III. Ergebnisse im Präzipitationstest:

Die präzipitierenden Eigenschaften der Antigammaglobulin - faktoren wurden gemäß der unter Methode IV aufgeführten Versuchsanordnung geprüft. Tabelle 6 bringt ein klassisches Experiment dieser Art mit dem Serum (Nr. 72) eines Leberkranken. Die Versuche wurden insgesamt an 15 hochtitrigen Seren Leberkranker (höher als 1:80) durchgeführt. Es fällt, wie auch Tabelle 5 zeigt, ein unterschiedliches Verhalten von nativen und inaktivierten Seren in ihren Reaktionen mit nativer und aggregierter Cohn'scher Fraktion II auf. Aggregierte Cohn'sche Fraktion II reagiert stärker mit nativen Seren als mit inaktivierten Seren. Dieser Befund ist auffällig, zumal die Prüfung der Temperaturabhängigkeit zeigen konnte, dass bei 56°C 30 Minuten der Faktor bereits komplett inhibierbar ist. Native Cohn'sche Fraktion II reagiert erwartungsgemäß auch am stärksten mit nativem Serum. Die maximalen Präzipitatemengen wurden bei CF II - Konzentrationen von 1,35 mg/ml Lösung gebildet. Entsprechende Parallelansätze mit Seren von Patienten mit PCP brachten ein ähnliches Ergebnis. Zumindest zeigte aggregierte Cohn'sche Fraktion II auch hier die stärkste Präzipitatabildung. Die jeweiligen Unterschiede zwischen nativem und inaktiviertem Serum waren dem Ergebnis der Temperaturabhängigkeit entsprechend hier nicht vorhanden.

Tabelle 6: Photometrische Messung der Präzipitation
von Seren Leberkranker mit humaner Cohn'
schen Fraktion II.

mg CF II pro ml Lösung	Extinktionen			
	1	2	3	4
0,45	0,15	0,11	0,05	0,03
0,9	0,30	0,23	0,13	0,06
1,35	0,31	0,25	0,14	0,08
1,8	0,30	0,24	0,12	0,06
2,7	0,28	0,23	0,08	0,04
3,6	0,26	0,21	0,05	0,02
4,5	0,24	0,19	0,04	0,02
5,4	0,22	0,17	0,04	0,02
6,3	0,19	0,16	0,03	0,01
7,2	0,17	0,14	0,03	0,01
8,1	0,15	0,12	0,02	0,01
9,0	0,13	0,11	0,02	0,01
9,9	0,11	0,10	0,02	0,005
10,8	0,09	0,08	0,01	0,003

1: CF II 65°C 30 Min. + Serum nativ

2: CF II 65°C 30 Min. + Serum 56°C 30 Min.

3: CF II nativ + Serum nativ

4: CF II nativ + Serum 56°C 30 Min.

IV. Ergebnisse der passiven Haemagglutination:

Den Untersuchungen der passiven Haemagglutination wurden Vorversuche vorangestellt, um direkt haemagglutinierende Faktoren, die das Ergebnis beeinflussen könnten, in ihrer Wirkung zu definieren.

1) Absorption von Heteroagglutininen des Serums mit unbehandelten Orh - Erythrozyten: Abbildung 1 bringt hierfür ein Beispiel. Es zeigte sich, dass die Absorption der Seren mit unbehandelten Erythrozyten das Ergebnis der passiven Haemagglutination in seinen Titern nur unwesentlich beeinflusste. Auf eine größere Versuchsreihe über direkt haemagglutinierende Faktoren, wie sie erstmalig von Havens 1958 durchgeführt wurde, konnte nach orientierenden Untersuchungen, die die Literaturergebnisse (Hoyt u. Morrison 1956; Turner et al. 1962; Gramlich u. Müller 1965; Weitze u. Jorke 1966) bestätigten, verzichtet werden.



Abb. 1: Passive Haemagglutination

mit dem Serum eines Leberpatienten; a ohne, b mit vorheriger Absorption von Heteroagglutininen durch unbehandelte Orh - Erythrozyten (0,01 ml Erythrozytensediment pro 0,25 ml Serum).

2) Die Prüfung der direkt haemagglutinierenden Eigenschaften der Faktoren auf unsensitierte tannierte Erythrozyten: Die Ergebnisse dieser Untersuchungen, verglichen mit denen bei Anwendung sensittierter Erythrozyten, sind übersichtlich geordnet nach akuten und chronischen Lebererkrankungen in den Abbildungen 2 - 4 dargestellt. Es fällt auf, dass von 46 in dieser Versuchsreihe getesteten Seren, die mit sensitierten Erythrozyten ein positives Ergebnis brachten, 16 gleichzeitig mit tannierten Orh - Erythrozyten reagierten, davon in der Gruppe akuter Hepatitiden 10 von 16 und in der Gruppe chronischer Lebererkrankungen 6 von 30 Seren. Die Agglutination tannierter Erythrozyten erreichte, wenn auch in seltenen Fällen, annähernd den Titer der Agglutination mit sensitierten Erythrozyten.

Für eine Differenzierung nach Krankheiten reicht das hier zur Orientierung herangezogene Krankengut nicht aus. Immerhin ergibt sich aus den Befunden die Notwendigkeit, eine Kontrolle mit unsensitierten tannierten Erythrozyten in jedem Versuchsansatz mitlaufen zu lassen; ein Befund, der für untannierte Erythrozyten nicht zutrifft.

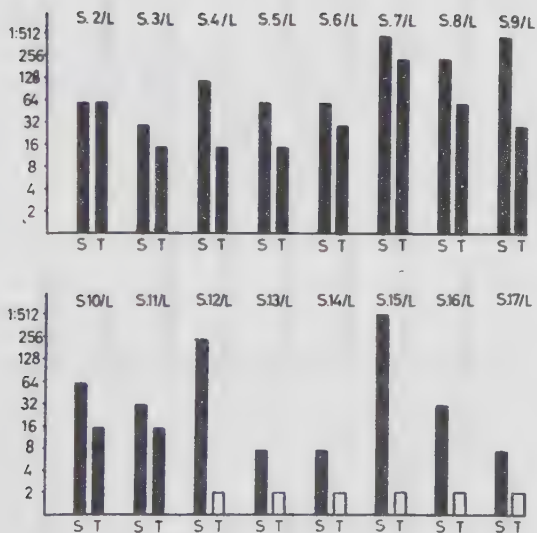


Abb. 2: Haemagglutination CF II-sensibilisierter (S) und tannierter (T) Orh - Erythrozyten bei Verwendung von Seren akuter Leberentzündungen. □ bedeutet in allen Abb. Titer unter 1:4.

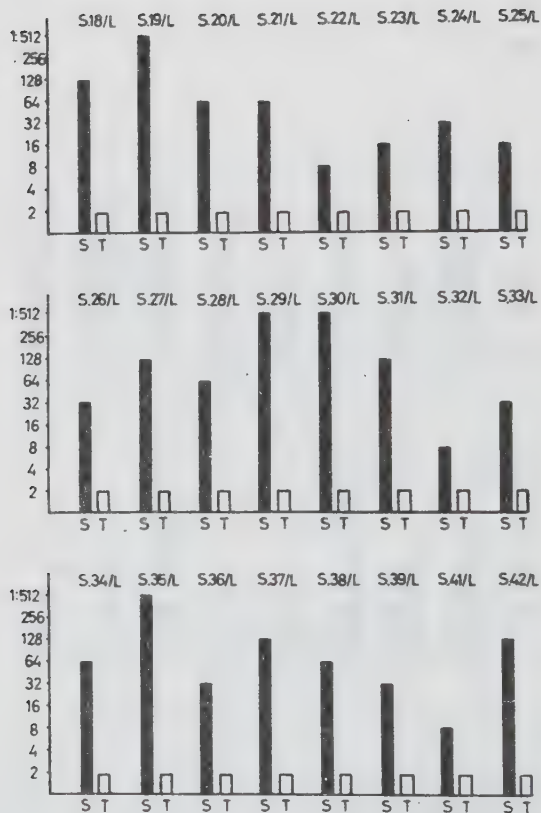


Abb. 3: Haemagglutination CF II-sensibilisierter (S) und tannierter (T) Orh - Erythrozyten bei Verwendung von Seren chronischer Lebererkrankungen.

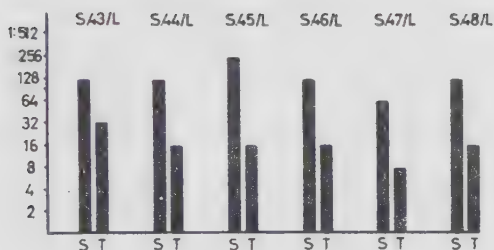


Abb. 4: Haemagglutination CF II-sensibilisierter (S) und tannierter (T) Orh - Erythrozyten bei Verwendung von Seren chronischer Lebererkrankungen. In diesen Fällen zeigten auch die tannierten Erythrozyten Agglutinationsreaktionen.

V. Agglutination und Inhibition mit nativem und aggregiertem Reaktanden:

Die Beeinflussung der Reaktion (Agglutination und Inhibition) durch native bzw. aggregierte Cohn'sche Fraktion II zeigen die Abbildungen 5 und 6. Die Titerdiagramme von 4 Seren von Patienten mit PCP bzw. Lebererkrankungen sind einander gegenübergestellt. Während die Seren der PCP - Patienten mit Erythrozyten, die mit nativer Cohn'schen Fraktion II sensitiert wurden, die Titergrenze von 1 : 4 nicht überschreiten, reagieren sie stark unter Verwendung von aggregiertem Reaktanden. Bei den Seren Leberkranke ist eine unterschiedliche Reaktionsstärke mit den verschieden vorbehandelten Reaktanden nicht festzustellen.

Nach Zugabe von Cohn'scher Fraktion II als Inhibitionsmaterial (0,6 mg/ml Lösung) zeigen die Seren von PCP-Patienten eine Aktivitätseinbuße um 3 - 4 Titerstufen, und zwar deutlicher bei der aggregierten Inhibitionslösung. Zur kompletten Inhibition reicht die genannte Konzentration offenbar nicht aus. Die Seren von Lebererkrankungen behielten mit gleichen Inhibitionskonzentrationen Cohn'scher Fraktion II ihre unverminderte Reaktionsaktivität. Nach Verdreifachung der Konzentration (1,8 mg/ml; siehe Abb. 7) lässt sich der Rheumafaktor vollständig inhibieren, wohingegen bei dieser Konzentration die Agglutinationsaktivität des Leberserums unwesentlich beeinträchtigt wird.

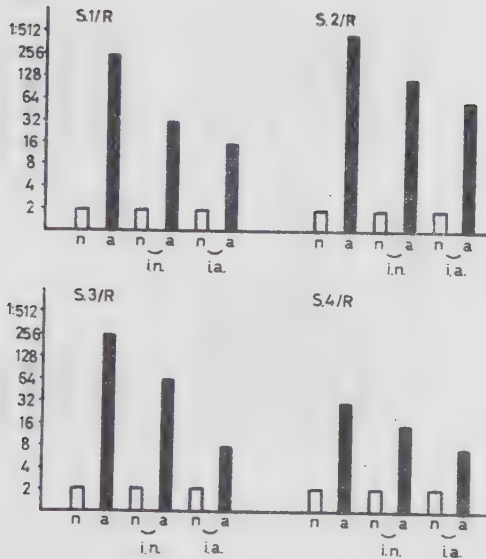


Abb. 5: Passive Haemagglutination mit Inhibitionsversuchen bei Verwendung von Seren PCP - Kranker. Sensibilisierung der Orh - Erythrozyten mit nativer (n) und aggregierter (a) Cohn'schen Fraktion II. Inhibitionsversuche mit nativer (i.n.) und aggregierter (i.a.) CF II in einer Konzentration von 0,6 mg/ml Lösung.

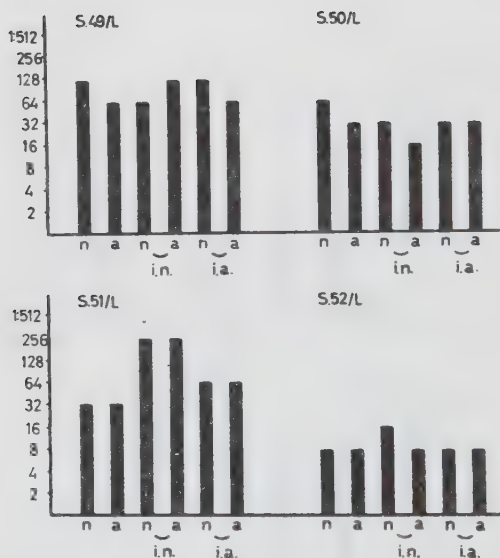


Abb. 6: Passive Haemagglutination mit Inhibitionsversuchen bei Verwendung von Seren Leberkranker. Sensibilisierung der Orh - Erythrozyten mit nativer (n) und mit aggregierter (a) CF II. Inhibitionsversuche mit nativer (i.n.) und aggregierter (i.a.) CF II in einer Konzentration von 0,6 mg/ml Lösung.

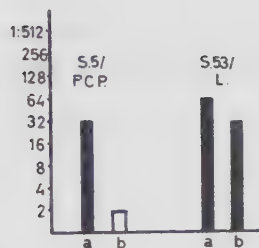


Abb. 7: Passive Haemagglutination (a) mit Zugabe (b) von 0,25 ml Inhibitionsmaterial in einer Konzentration von 1,8 mg CF II / ml Lösung. Beim Serum des PCP - Patienten komplette Inhibition, beim Serum des Leberpatienten Titerabfall um eine Stufe.

VI. Passive Haemagglutination mit Reaktanden verschiedener Spezies:

Die Reaktion der Antigammaglobulinfaktoren mit CF II verschiedener Spezies (Mensch (M), Kaninchen (K), Pferd (P), Rind (R) und Schaf (S)) wurde im Orh - Erythrozytentest geprüft. Von 40 untersuchten Seren Leberkranker reagierten 30 (abb. 8 - 12) in der unter VI beschriebenen Versuchsanordnung positiv. Die Abbildungen 8 und 10 enthalten Versuche, in denen tannierte, unsensitierte Erythrozyten keine Agglutination zeigten. Es fällt bei diesen Versuchen bereits auf, dass die Reaktionen der Seren mit Cohn'schen Fraktionen II vom Menschen sowie verschiedener Spezies, ein unterschiedliches Spektrum, bezogen auf die Titerhöhe, bieten. Die Abbildung 9 zeigt Fälle, bei denen selbst unsensitierte tannierte Erythrozyten in unterschiedlichen Titern mitreagierten. Es muß offen bleiben, welche Faktoren diese Direktagglutination bedingen. Sicherlich ist dieselbe nicht ansatzbedingt, da mit gleichen Testvorbereitungen an einem Tage unter jeweils entsprechenden Testbedingungen diese Ergebnisse z.T. im Doppelansatz gewonnen wurden. Eine Spezifität ist der Reaktion tannierter Erythrozyten nicht beizumessen, da entsprechend häufig negative Befunde erhoben wurden. Die Abbildung 10 enthält Fälle mit sehr variablem Spektrum der Agglutinationen mit verschiedenen Cohn'schen Fraktionen II, unabhängig von der direkt agglutinierenden Eigenschaft der Seren.

Eine Auftrennung der positiven Seren in Krankheitstypen unterblieb, da keine sicheren Differenzen in der Häufigkeit der positiven Haemagglutinationen, bezogen auf Krankheiten, auffielen. Besonders zu erwähnen sind 2 Seren (Nr. 82/L und 83/L), bei denen eine Reaktion mit humaner Cohn'schen Fraktion II nicht zur Beobachtung kam, ein Befund, der von verschiedenen Autoren, bezogen auf den echten Rheumafaktor der PCP, als nicht existent oder extreme Seltenheit bezeichnet wird.

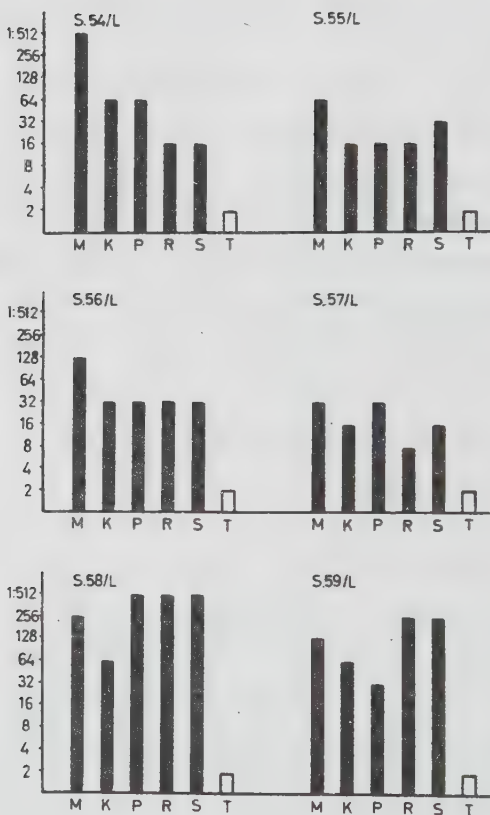


Abb.8: Passive Haemagglutination mit Reaktanden verschiedener Spezies bei Verwendung von Seren Leberkranker.

(Fortsetzung der Abb. 8 auf den Seiten 47 und 48)

Sensibilisierung mit CF II von Mensch (M), Kaninchen (K), Pferd (P), Rind (R) und Schwein (S). T = Kontrolle mit tannierten Erythrozyten.

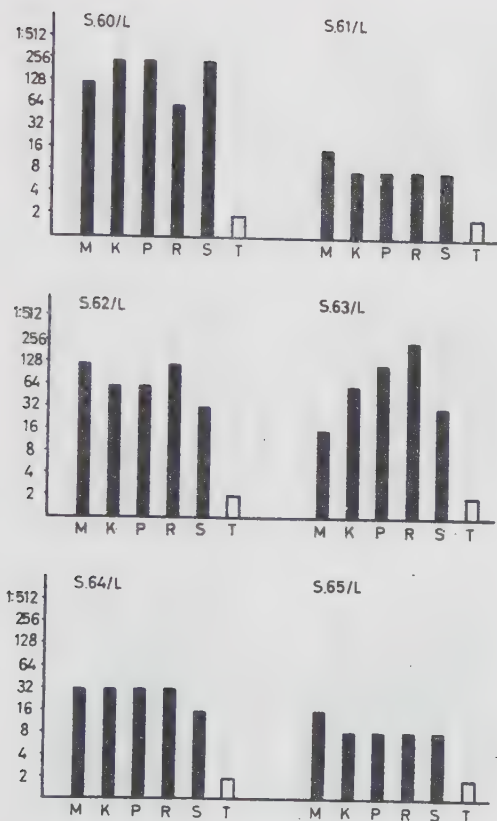


Abb.8 Fortsetzung. Erläuterung siehe Seite 46

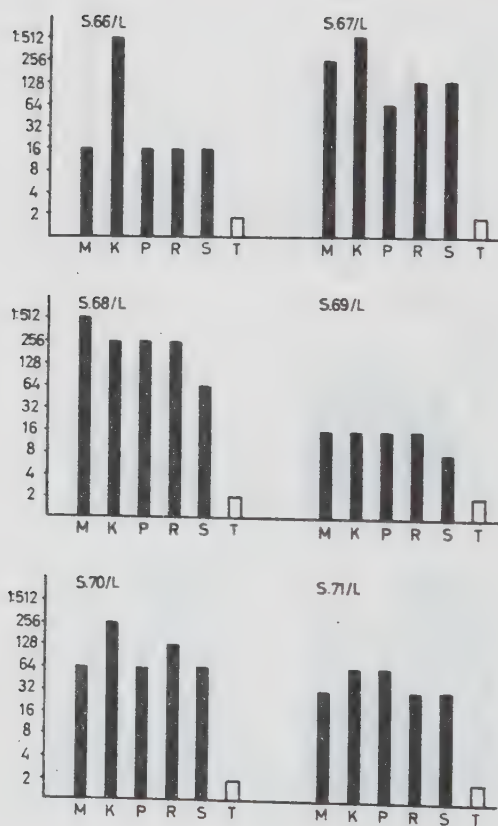


Abb.8 Fortsetzung. Erläuterung siehe Seite 46

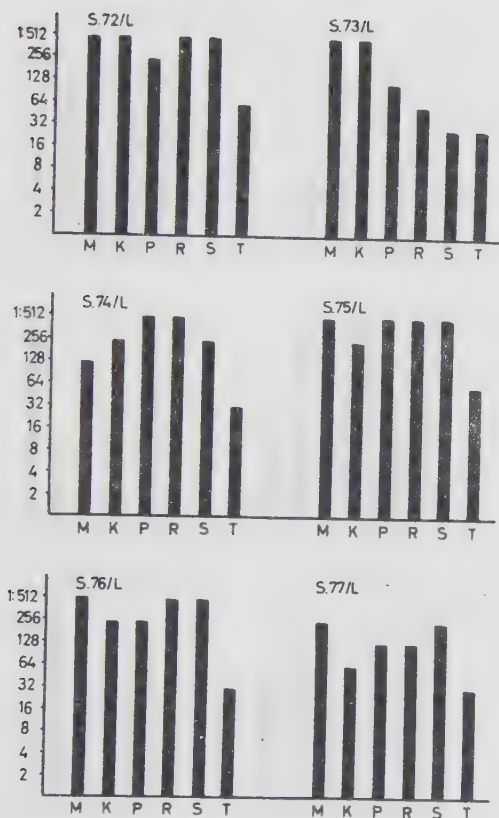


Abb. 9: Passive Haemagglutination mit Reaktanden verschiedener Spezies bei Verwendung von Seren Leberkranker. In diesen Fällen zeigten auch tannierte Erythrozyten Agglutinationsreaktionen.

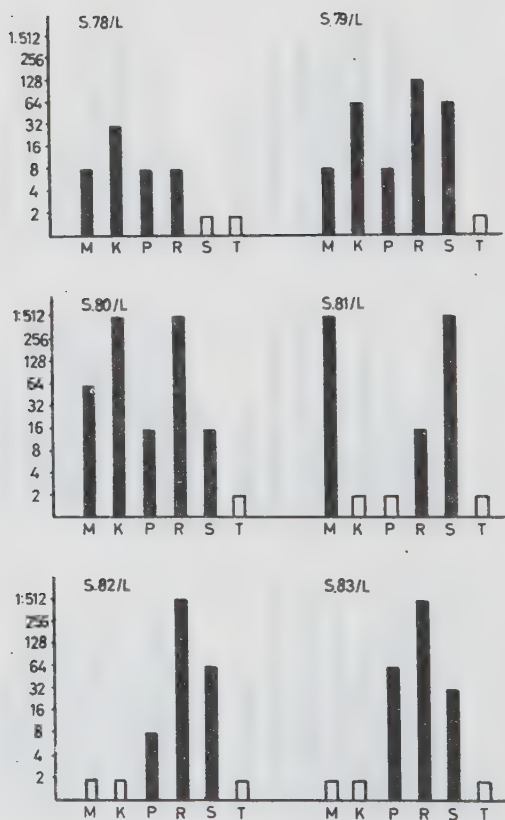


Abb. 10: Passive Haemagglutination mit Reaktanden verschiedener Spezies bei Verwendung von Seren Leberkranker. Die Abbildung zeigt Seren mit sehr variablen Spektren.

VII. Inhibitionsversuche mit humaner Cohn'schen Fraktion II: Analog entsprechenden Untersuchungen mit dem Rheumafaktor der PCP und dessen spezifischer Affinität hinsichtlich einer Reaktion mit humanem Gammaglobulin wurden Versuche unternommen, die Reaktionen der Antigammaglobulinfaktoren in Seren Leberkranker mit Gammaglobulinen vom Menschen sowie verschiedener Spezies durch aggregierte Cohn'sche Fraktion II zu hemmen.

In Anlehnung an den Präzipitationstest wählten wir zur Inhibition eine Konzentration von 1,8 mg CF II pro ml Lösung. Dieses Quantum Gammaglobulin war im eigenen Ansatz mit Seren von PCP - Kranken im Sinne einer Inhibition voll wirksam. Der Test wurde in der zuvor beschriebenen Weise ausgeführt (siehe Seite 26). Die Abbildungen 11 u. 12 bringen die Ergebnisse der durchgeführten Versuche. Auffällig ist, dass in 11 Ansätzen nur zweimal eine Teilinhibition erreicht wurde (Abb. 12). In den meisten Fällen bieten Agglutination und Inhibition gleiche Spektren und gleiche Titer.

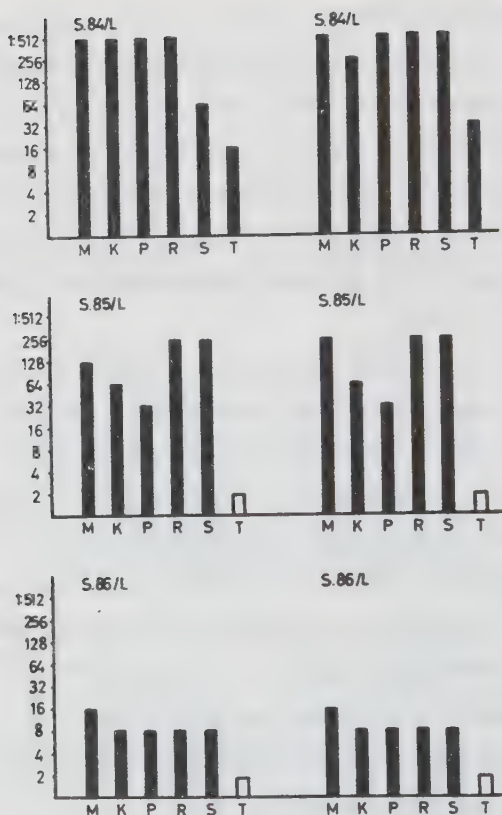


Abb. 11: Inhibitionsversuche an Seren von Leberpatienten mit humaner aggregierter CF II in einer Konzentration von 1,8 mg/ml Lösung. Sensibilisierung der Orh-Erythrozyten mit CF II von Mensch (M), Kaninchen (K), Pferd (P), Rind (R) und Schaf (S). T= Kontrolle mit tannierten Erythrozyten.

Linker Bildabschnitt - Agglutinationen
 Rechter Bildabschnitt - Inhibitionsversuche

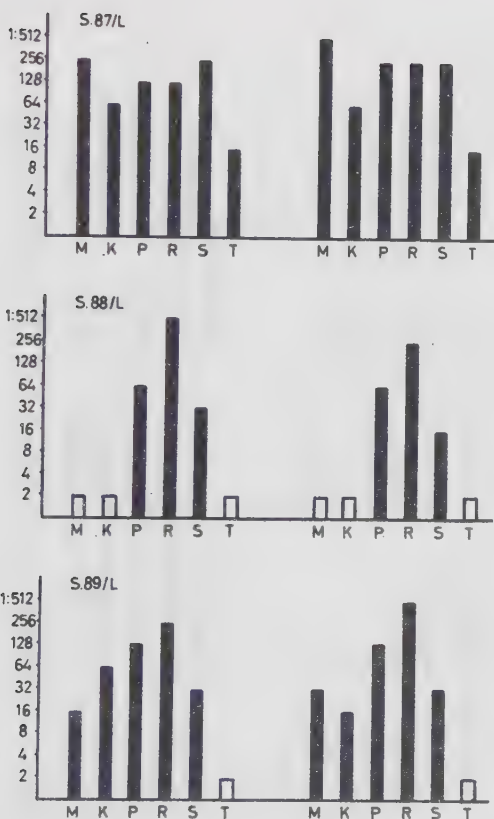


Abb. 11 Fortsetzung. Erläuterung siehe Seite 52

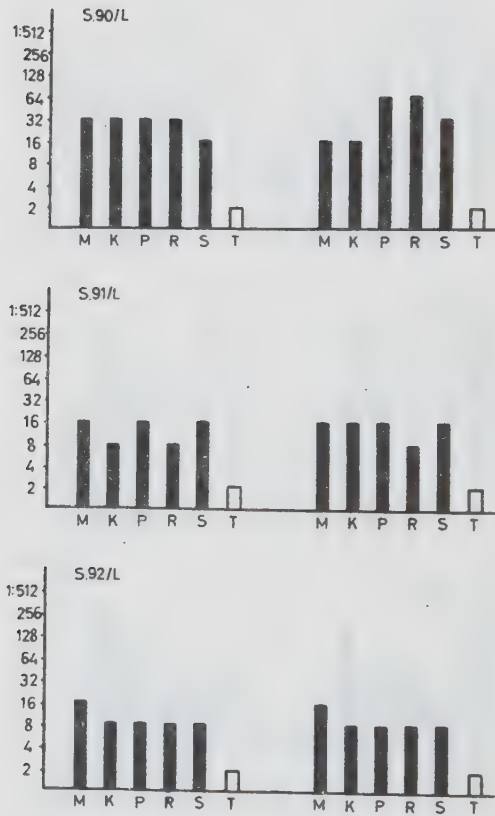


Abb. 11 Fortsetzung. Erläuterung siehe Seite 52

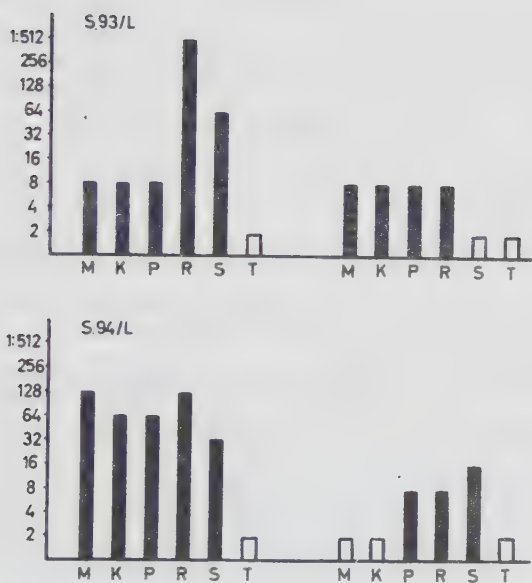


Abb. 12: Inhibitionsversuche an Seren von Leberpatienten mit humaner aggregierter CF II. In diesen beiden Fällen kam es zur teilweisen Inhibition.

D i s k u s s i o n

Faktoren mit AGF - Eigenschaften treten als nicht krankheits-spezifische Antikörperphänomene bei verschiedenen nicht-rheumatischen Erkrankungen auf. Besonders häufig lassen sich derartige Befunde bei Lebererkrankungen erheben. Der von uns ermittelte Prozentanteil positiver Seren mittels RF-Latextest liegt mit 43 % im mittleren Bereich der Literaturangaben (s. Seite 14-16). Die im Schrifttum angegebenen Zahlen weisen jedoch erhebliche Schwankungen auf, deren Ursachen aus den dargestellten Befunden nicht im einzelnen ablesbar sind.

Grundsätzlich dürfte zunächst das Interesse einer Differenzierung von PCP - spezifischen Faktoren und Faktoren bei nichtrheumatischen Erkrankungen gelten. Hier scheint dem Waaler-Rose-Test eine besondere Bedeutung zuzukommen.

Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, sind starke Differenzen unter den Zahlen positiver Waaler-Rose-Tests von Seren Leber- bzw. PCP-Kranker vorhanden. Die Angaben decken sich mit entsprechenden Literaturstellen (Deicher 1964; Bonomo, Lospalluto u. Ziff 1963; Klosterkötter, Manitz u. Strobel 1962). Seren von Leberpatienten reagieren im Waaler-Rose-Test nur unwesentlich häufiger positiv als Seren gesunder Kontrollpersonen.

Untersuchungen von Bonomo et al. (1963) unterstützen diese Ergebnisse. Die Autoren zeigten anhand säulenchromatographischer Studien, dass die einzige Waaler-Rose-

Test-aktive Fraktion in Seren PCP-Kranker - bei pH 6,5 eluierbar - in Seren Leberkranker fehlt. Die im Serum von PCP- Patienten im pH 7,0 abgetrennte Komponente mit Reaktionsaktivität in Latex- und Präzipitationstests, nicht hingegen im Waaler-Rose-Test, war in Seren der Leberpatienten nachweisbar (Lospalluto u. Ziff 1959). Normalseren enthielten diese Fraktion entsprechend der Häufigkeit positiver Latextests. Zur Reaktionsweise der beiden Fraktionen bringen Bonomo et al. (1963) zwei Erklärungsmöglichkeiten:

Die im pH 6,5 eluierbare Fraktion reagiert mit humanem und mit Kaninchengammaglobulin (also nicht speziesspezifisch), während die andere Fraktion (im pH 7,0 eluierbar) nur mit humanem Gammaglobulin reagiert. Für die erste Fraktion kann darüberhinaus eine Aktivität gegenüber AgAk-Komplexen neben den bekannten präzipitierenden Eigenschaften mit CF II nicht ausgeschlossen werden.

Williams und Kunkel (1962) isolierten mittels säulenchromatographischer Absorption aus Seren PCP-Kranker vergleichbare Fraktionen. Teilweise Reaktionen mit Immunkomplexen auf der einen und mit reinem humanem Gammaglobulin auf der anderen Seite zeigten auch die beiden Makroglobulinfraktionen, für die Mellors et al. (1961) in den Plasmazellen unterschiedliche Bildungsorte aufdeckten. Von den Autoren wird offen gelassen, ob am Molekül der

mehrseitig reagierenden Fraktion getrennte Haftstellen für Kaninchen- und humanes Gammaglobulin existieren, oder ob die gleiche Determinante an beiden Gammaglobulinen vorkommt. Die Tatsache, dass aggregiertes humanes Gammaglobulin die Waaler-Rose-Test-aktive Komponente neben nativem Kaninchengammaglobulin inhibiert, während natives humanes Gammaglobulin diese Komponente nicht inhibiert, stützt die derzeitige Vorstellung über die Reaktionsweise der beteiligten Reaktionspartner.

Antigammaglobulinfaktoren können auftreten, wenn im Verlauf von chronischen Erkrankungen der Organismus durch zirkulierende AgAk-Komplexe sensibilisiert wird. Tierexperimentell ließ sich dieser Zustand durch eine Immunisierung mit totem *Escherichia - Coli* - Material (Abruzzo u. Christian 1961; Milgrom u. Witebsky 1960) oder AgAk - Komplexen (Glynn, Holborow u. Johnson 1957) imitieren, die stets zur Produktion RF-ähnlicher Faktoren führte. Offenbar bildet der Organismus solche abnormen Gammaglobuline nur dann, wenn er von den antigenwirksamen Substanzen in chronischer Weise stimuliert wird (Atwater u. Jacox 1963). Die Hypothese von Glynn et al. (1957) besagt, dass es bei der immunologischen Reaktion des Antikörpers mit seinem Antigen zu einer Exposition von Determinanten komme, die sich zuvor in einem immunologisch maskierten Zustand befanden. Aho u. Simons (1963) sprechen gleichsinnig von einer Alteration der sterischen Konfiguration spezifisch gebundener Immunglobuline.

Das folgende Experiment untermauert diese Vorstellung:

Glynn et al. (1957) immunisierten Kaninchen mit Kaninchenerythrozyten, die mit ihren Antikörpern von Schaf, Rind, Mensch, Pferd und Schwein beladen waren.

Die gewonnenen Immunseren wurden auf ihr Verhalten im Rh - Anti - D - System untersucht. Es zeigte sich, dass alle Seren in ziemlich starkem Maße Kreuzreaktionen aufwiesen. Denaturiertes Gammaglobulin als Immunisierungsmaterial hat den gleichen Effekt, wie die Versuche an Meerschweinchen und Kaninchen von McCluskey et al. (1962) zeigten. Hitze-denaturiertes autologes Gammaglobulin induziert gegen heterologes Gammaglobulin wirksame Faktoren. Aufgrund dieser Befunde ist für den Rheumafaktor und die AGF bei Lebererkrankungen ein gemeinsamer pathogenetischer Mechanismus vorerst nicht auszuschließen. Es würde den Rahmen dieser Arbeit überschreiten, auf die ätiologischen Möglichkeiten der immunologischen Prozesse einzugehen, die als Antigenstimulus für die AGF bei Lebererkrankungen in Frage kommen. Es sei hier auf entsprechende Arbeiten verwiesen (Howell, Malcolm u. Pike 1960; Meyer zum Büschenfelde u. Lange 1966).

Es ist bekannt, dass in Seren Leberkranker ausser AGF auch Faktoren gegen Kerne und subzelluläre, zytoplasmatische Fraktionen verschiedener Organe auftreten (Scheiffarth u. Warnatz 1965; Meyer zum Büschenfelde, Hopf u. Bokisch 1966). Durch Absorptionsversuche konnte geklärt werden, dass zwischen antizytoplasmatischen Faktoren sowie antinukleären Faktoren bei Lebererkrankungen keine

Identität besteht (Meyer zum Büschenfelde 1966; Keitel u. Martin 1965). Ebenso wurde eine Korrelation zwischen dem Auftreten positiver Latextests bei Lebererkrankungen und den Serumlabilitätsproben mit Ausnahme des Thymoltrübungstestes ausgeschlossen (Dobias, Szecsey u. Backhausz 1961; Keitel u. Martin 1965; Lindner et al. 1962; Meyer zum Büschenfelde - eigene unveröffentlichte Ergebnisse). Die AGF stellen im Verlaufe der Krankheit inkonstante Befunde dar (Meyer zum Büschenfelde 1966) und spiegeln auch nur dann in etwa die Krankheitsaktivität wider, wenn native und entsprechend verdünnte Seren getestet werden (Dobias, Szecsey u. Bozsoky 1962).

Im Rahmen der hier zu diskutierenden Frage einer Differenzierung von AGF bei Lebererkrankungen bzw. RF der PCP erlauben die eigenen Versuche folgende Feststellungen:

1.) Die AGF bei Lebererkrankungen sind bei 56°C hitzelabil, die RF der PCP hingegen nicht bei 56°C inaktivierbar.

2.) Die AGF bei Lebererkrankungen sind mit der passiven Hämagglutination und im Präzipitationstest in gleicher Häufigkeit unter Verwendung speziesspezifischer bzw. nicht speziesspezifischer Gammaglobuline (CF II) nachweisbar.

3.) Inhibitionsversuche mit humaner CF II sind mit der Gammaglobulinmenge ineffektiv, die die Rheumafaktoraktivität voll inhibiert.

zu 1.) Die Inaktivierbarkeit der AGF bei Lebererkrankungen bei 56°C erlaubt einerseits eine in jedem Labor durchführbare einfache Differenzierung, wirft aber andererseits auch

erhebliche Probleme auf. So stellt sich die Frage, ob die im Latextest zu beobachtenden Reaktionen nicht unspezifischer Art sind und mit einer AgAk - Reaktion nichts zu tun haben. Die Frage ist umso berechtigter, als gezeigt werden konnte, dass unterschiedliche Latexreagenzien auch im Testausfall sehr verschieden waren (Meyer zum Büschenfelde 1966). Mit dem Hyland - Reagenz wurden jeweils die höchsten Zahlen positiver Befunde erreicht, so dass eine unspezifische Agglutination der beladenen Partikel in dieser Form der Aufbereitung für einen Teil der Befunde angenommen werden muß. Dies wird bestätigt durch eine Differenz in der Häufigkeit positiver Latextests und positiver passiver Hämagglutinations- bzw. Präzipitationsversuche (43 % Hyland - Reagenz, 34 % pass. Hämaggl.). Diese Feststellungen schränken den Wert der Latexreaktionen hinsichtlich einer Spezifität der AGF erheblich ein, erhöhen jedoch die Sensibilität bezüglich der Diagnostik von Rheumafaktoren unter Verwendung inaktivierter Seren. In diesem Zusammenhang erhält auch der photometrische Test in der dargestellten Weise seine besondere Bedeutung in der Routinediagnostik.

Der Test läßt ein differentes Verhalten von Rheumafaktoren und AGF im Serum Leberkranker klar erkennen. Während nach Inaktivierung bei 56°C 30 Minuten die Rheumafaktoraktivität unvermindert weiterbesteht, waren entsprechende Faktoren im Serum von Leberpatienten komplett inhibierbar. Zugegebenes Meerschweinchenkomplement oder komplementhaltiges normales

humanes Nativserum veränderte das Versuchsergebnis nicht, während inaktivierte Seren von PCP - Patienten nach Zugabe von Meerschweinchenkomplement größere Agglutinatmengen bildeten. Die Stabilität des Rheumafaktors gegenüber der Seruminaktivierung unter den genannten Bedingungen wird in der Literatur bestätigt (Heller et al. 1955; Ziff et al. 1956; Schierz 1961). Nach Klosterkötter et al. (1962) tritt eine nichtrheumatische Latexreaktion nach Seruminaktivierung im wesentlichen nur noch dann auf, wenn es sich um Erkrankungen mit chronischer Bindegewebsvermehrung handelt. Chronische Lebererkrankungen sind dabei eingeschlossen.

Keitel und Martin (1965) beobachteten nach Inaktivierung von 40 Normalseren, die zuvor in 6 Fällen Latex-positiv reagiert hatten, keine einzige Agglutination mehr. Die Befunde erlauben damit den Schluß, dass die Inaktivierung die Spezifität der Latex-Testergebnisse erhöht. Für die "unspezifischen" Faktoren muß angenommen werden, dass sie bereits bei der Inaktivierungsbehandlung aggregieren. In unserem Laboratorium wurde erfolgreich damit begonnen, die Aggregate zu trennen. Dabei läßt sich die AGF-Aktivität teilweise wieder nachweisen (Meyer zum Büschenfelde - persönliche Mitteilung). Schwer zu entscheiden ist im Latextest vorläufig noch, wie weit wirklich AGF erfaßt werden bzw. bei 56°C inaktivierbare Komplement - Komponenten eine unspezifische Reaktion bedingen. Wir haben diese Differenzierung mit gleichzeitiger Anwendung der passiven Häm-

agglutination und Präzipitation erreicht. Die oben angegebene Differenz zwischen Latextestergebnissen und passiver Hämagglutination dürfte dem Anteil dieser unspezifischen Befunde entsprechen.

In den Präzipitationsversuchen zeigen native Seren Leberkranker mit aggregierter CF II die stärkste Reaktion. Die Präzipitatenmenge nach Inaktivierung der Seren liegt unerwartet hoch, nämlich über den Werten der nativen Seren mit nativer CF II. Die maximale Präzipitatenmenge wurde bei einer CF II - Konzentration von 1,3 mg/ml Serum gebildet. Verglichen mit entsprechenden Versuchen an Seren von PCP-Patienten fällt die relativ starke Präzipitation mit nativer CF II auf. Der Rheumafaktor reagiert nur mit einem geringen Teil niedermolekularen Gammaglobulins (7S) in Form eines löslichen Komplexes (Franklin, Holman, Müller - Eberhard u. Kunkel 1957; Franklin, Kunkel, Müller - Eberhard u. Holman 1957). Nach Edelman et al. (1958) präzipitiert mit dem Rheumafaktor Gammaglobulin einer Sedimentationskonstanten von 20 S. In Übereinstimmung dazu fand Christian (1958) das reagierende Gammaglobulin unter den Fraktionen SS-2 und SS-3, die in der Natriumsulfat - Fraktionierung gewonnen wurden und größere Aggregate darstellen.

zu 2.) Das Verhalten der AGF von Seren Leberkranker in der passiven Hämagglutination scheint dem in der Präzipitation zu entsprechen. Die Titer zeigen bei der Verwendung von aggregiertem und nativem Reaktanden im Gegensatz

zum Serum der PCP - Patienten kaum Unterschiede. Da zur Hämagglutination nur inaktivierte Seren benutzt werden, bleibt hier wieder die zuvor diskutierte Aggregation der AGF bei Lebererkrankungen zu bedenken. Unter diesem Aspekt lassen die Hämagglutinationsversuche keine Rückschlüsse auf die AGF - Eigenschaften im Nativzustand zu.

Bei Sensitierung der Erythrozyten mit CF II verschiedener Spezies wird eine von der Spezies unabhängige Reaktionsweise der AGF bei Lebererkrankungen erkennbar. In dieser Hinsicht besteht keine Abweichung vom Verhalten des Rheumafaktors (Deicher 1964). Das Spektrum der Reaktionen mit speziesverschiedenen Reaktanden variiert sehr stark, wie besonders aus Abb. 10 ersichtlich ist. Die nicht speziesspezifische Reaktion der AGF überrascht zunächst, weil der Waaler-Rose-Test keine entsprechenden Befunde erbringt. Es bleibt noch offen, wieweit für diese Erscheinung ein aggregierter Zustand der Faktoren verantwortlich ist. Endgültig wird hierzu eine Stellungnahme erst möglich werden, wenn Untersuchungen an Seren vorliegen, die nach Sensibilisierung mit heterogen zusammengesetzten AgAk - Komplexen gewonnen wurden. AGF mit strenger Spezifität sind nach orientierenden Versuchen (Meyer zum Büschenfelde - persönliche Mitteilung) nur unter Verwendung einheitlicher und reiner Gammaglobulinfraktionen zur Sensibilisierung zu erwarten.

zu 3.) Seren PCP - Kranker sind in ihrer Antigammaglobulinaktivität mit aggregierter CF II in einer Konzentration

von 1,8 mg CF II/ ml Lösung inhibierbar. Auf Seren von Leberpatienten hingegen üben diese Gammaglobulinmengen weder im nativen Zustand noch im aggregierten Zustand einen nennenswerten inhibitorischen Effekt aus. Laut Schrifttum (Keitel u. Martin 1965; Dobias, Szecsey u. Bozsoky 1962; Dresner u. Trombly 1959) lassen sich die AGF der Seren Leberkranker mit CF II - Lösungen von 8 bzw. 10 % vollständig hemmen. Da diese Konzentrationen im Vergleich zur Rheumafaktorinhibition unverhältnismäßig hoch sind, muß in Frage gestellt werden, ob es sich hier um eine spezifische Inhibition im immunologischen Sinne handelt.

Einer Klärung bedürfen in diesem Zusammenhang noch folgende Fragen:

- 1.) Wie verhalten sich die AGF der Lebererkrankungen im Latextest unter Anwendung von Reaktanden verschiedener Spezies?
- 2.) Lassen sich die AGF in Seren von Leberpatienten mit speziesverschiedenen CF II inhibieren?
- 3.) Wie verhalten sich im Tierexperiment induzierte AGF unter Verwendung heterogen zusammengesetzter AgAk - Komplexe hinsichtlich ihrer Reaktion mit Gammaglobulin verschiedener Spezies in der passiven Hämagglutination und im Präzipitationstest?

Z u s a m m e n f a s s u n g

Seren von Patienten mit akuter und chronischer Hepatitis und Leberzirrhose wurden im Latextropfen- und Latexfixationstest, im Waaler-Rose-Test, im Präzipitationstest mit Cohn'scher Fraktion II und in der passiven Haemagglutination untersucht.

Bei Lebererkrankungen fielen die Latextests in 43 %, der Waaler-Rose-Test in 4,8 % positiv aus. Vergleichsuntersuchungen an Seren von PCP-Kranken erbrachten Werte von 81 % bzw. 67 %.

Bei der photometrischen Messung der Latexagglutination zeigen die Antigammaglobulinfaktoren der Lebererkrankungen nach Inaktivierung keine Aktivität mehr. Seren von PCP - Patienten behalten unter dieser Behandlung unverminderte Reaktionsstärke. In der Präzipitation mit humaner Cohn'schen Fraktion II, ebenfalls photometrisch gemessen, ließ sich jedoch nach Inaktivierung der Seren von Leberpatienten noch Antigammaglobulinaktivität nachweisen.

Antigammaglobulinfaktoren bei Lebererkrankungen reagieren mit speziesspezifischen und speziesschiedenen Reaktanden in der passiven Haemagglutination, sind aber mit den für Rheumafaktoren ausreichenden CF II'-Konzentrationen nicht inhibierbar. Auch bleibt im Gegensatz zum Verhalten des Rheumafaktors die Hitzebehandlung von Sensibilisierungs- und Inhibitionsmaterial ohne Einfluß auf die Reaktion.

Die Befunde werden anhand der Literatur diskutiert. Für die veränderte Reaktionsweise der AGF bei Lebererkrankungen nach Inaktivierung des Serums wird eine Aggregation der Faktoren verantwortlich gemacht. Neben dem Waaler-Rose-Test eignet sich die Seruminaktivierung und die Inhibitionsreaktion mit CF II unter der beschriebenen Methode zur Differenzierung der Antigammaglobulinfaktoren.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- ABRUZZO, J. and CHRISTIAN, C.L.
Induction of a rheumatoid factor-like substance
in rabbits.
J. Exper. Med. 114: 791-806, 1961
- AHO, K. and SIMONS, K.
Reaction of the Rheumatoid Factor with Human
Specific Precipitates and with Native Human
Gamma Globulin.
Arthr. & Rheumat. Vol. 6 Nr.6, 676-688, 1963
- ALEXANDER, W.R.M. and de FOREST, G.K.
The sensitized sheep cell agglutination reaction
in rheumatoid arthritis.
Amer. J. Med. 16: 191-196, 1954
- ARNON, E., VARGUES, R. and LECHEVALLIER, P.L.
The latexreaction. Application to the study of
1150 serums.
Presse Med. 69: 54-59, 1961
- ATWATER, E.C. and JACOX, R.F.
The latexfixationstest in patients with
liver disease.
Ann. Int. Med. 58: 419-425, 1963
- BARTFELD, H., MAHOOD, E. and HARTUNG, E.F.
Evaluation of haemagglutination tests in
the diagnosis of rheumatoid arthritis.
Ann. Rheumat. Dis. 17: 83-88, 1958
- BONOMO, L., LOSPALLUTO, J. and ZIFF, M.
Anti-Gamma-Globulin Factors in Liver Disease.
Arthr. & Rheumat. 6: 104-114, 1963

BOUCHIER, J.A.D., RHODES, K. and SHERLOCK, S.

Serological abnormalities in patients with liver disease.

Brit. Med. J. 5383: 592-594, 1964

BOYDEN, S.V.

The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera.

J. Exper. Med. 93: 107-120, 1951

CECIL, R.L., NICHOLLS, E.E. and STAINSBY, W.J.

Characteristics of streptococci isolated from patients with rheumatic fever and chronic infectious arthritis.

Amer. J. Path. 6: 619-625, 1930

CHRIST, P., VANEK, E., SCHIESSL, R., KRACHUDEL, K.H.

u. H. BECKER,

Zur Serologie rheumatischer Erkrankungen.

Z. Rheumaforsch. 20: 81-98, 1961

CHRISTIAN, C.L.

Characterization of the "Reactant" (gamma globulin factor) in the F II precipitin reaction and the F II tanned sheep cell agglutination test.

J. Exper. Med. 108: 139-157, 1958

CLEVE, H. u. F. H A R T M A N N

Immelektrophoretische Serumuntersuchungen beim Gelenkrheumatismus.

Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 63: 637-641, 1957

DAIKOS, G.K., M.H. KLONTZAS u. M.H. ATHANASIADOU

Der diagnostische Wert des Latex-Fixationstestes bei der rheumatischen Arthritis.

Münch. Med. Wschr. 31: 1281-1282, 1959

DEICHER, H.

Die Reaktion der Rheumafaktoren mit humanem und tierischem Gammaglobulin.

Klin. Wschr. 42: 367-370, 1964.

DICKMANS, H. u. E. FRITZE

Das Caplan-Syndrom (Arthritis bei Silikose).

Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 65: 411-414, 1959

DOBIAS, G., G. SZECSEY u. R. BACKHAUSZ

Die Bedeutung der Latexagglutinationsprobe in Leberleiden.

Z. Immunforsch. 122: 134-147, 1961

DOBIAS, G., G. SZECSEY u. S. BOZSOKY

Beitrag zum Mechanismus der Latex-Agglutination mit Seren von Hepatitiskranken.

Z. Immunforsch. 123: 231-244, 1962

DRESNER, E. and TROMBLY, P.

The latexfixation reaction in nonrheumatic disease.

New Engl. J. Med. 261: 981-988, 1959

EATON, M.D., MURPHY, W.D. and HANFORD, V.L.

Heterogenetic antibodies in acute hepatitis

J. Exper. Med. 79: 539-557, 1944

EDELMAN, G.M., KUNKEL, H.G. and FRANKLIN, E.C.

Interaction of the rheumatoid factor with antigen-antibody complexes and aggregated gamma globulin.

J. Exper. Med. 108: 105-120, 1958

FELLMANN, N. und M. ENDERLIN

Serologische Reaktionen bei entzündlichen und nicht-entzündlichen Affektionen der Wirbelsäule und der Gelenke.

Dtsch. Med. Wschr. 41: 1956-1960, 1961

FRANKLIN, E.C., HOLMAN, H.R., MÜLLER- EBERHARD, H.J.
and KUNKEL, H.G.

An unusual protein component of high molecular weight
in the serum of certain patients with rheumatoid
arthritis.

J. Exper. Med. 105: 425-438, 1957

FRANKLIN, E. C., KUNKEL, H.J., MÜLLER-EBERHARD, H.J.
and HOLMAN, H.R.

Relation of high molecular weight proteins to the
serological reactions in rheumatoid arthritis.

Ann. Rheum. Dis. 16: 315-321, 1957

GLYNN, L., HOLBOROW, E. and JOHNSON, G.

The nature of the Rose-Waaler-factor.

Proc. Roy. Soc. Med. 50: 469-471, 1957

GRAMLICH, F. und H.E. MÜLLER

Die Heterohämagglutination in der Diagnostik der
Virushepatitis.

Münch. Med. Wschr. 42: 2049-2054, 1965

HALL, A.P., MEDNIS, A.D. and BAYLES, T.B.

The latex agglutination and inhibition reaction.

New Engl. J. Med. 258: 731-735, 1958

HAVENS, W.P.

Hemagglutination in viral hepatitis.

New Engl. J. Med. 259: 1202- 1206, 1958

HEIMER, R. LEVIN, F.M. and RUDD, E.

Globulins Resembling Rheumatoid Factor in
Serum of the Aged.

Amer. J. Med. 35:175-181, 1963

HELLER, G., JACOBSON, A.S. and KOLODNY, M.H.

A modification of the haemagglutination
test for rheumatoid arthritis.

Proc. Soc. Exp. Biol. 72: 316-323, 1949

- HELLER, G., KOLODNY, M.H., LEPOW, T.H., JACOBSON, A.S.,
RIVERA, M.E. and MARKS, G.H.
The haemagglutination test for rheumatoid arthritis.
IV. Characterization of the rheumatoid agglutinating
factor by analysis of serum fractions prepared by ethanol
fractionation.
J. Immunol. 74: 340-350, 1955
- HOBSON, D. and GORRIL, R.H.
Agglutination test of rheumatoid arthritis.
Lancet 389-391, 1952
- HOWELL, D.S., MALCOLM, J.M. and PIKE, R.
The F II agglutinating factors in serum of patients
with non-rheumatic disease.
Amer. J. Med. 29:662-671, 1960
- HOYT, R.E. and MORRISON, L.M.
Reactions of Viral Hepatitis Sera with M. rhesus
Erythrocytes.
Proc. Soc. Exp. Biol. 93: 547-549, 1956
- JACOBSON, A.S., KAMMERER, W.H., WOLF, J., EPSTEIN, W.V.
and HELLER, G.
The Hemagglutination Test for Rheumatoid Arthritis.
Amer. J. Med. 20:490-499, 1956
- KEITEL, W. u. G. MARTIN
Antigammaglobulinfaktoren bei Lebererkrankungen.
Z. Immunforsch. 128: 63-71, 1965
- KLEINE, N., MÜLLER, W. u. M. MATTHES
Ein neues Verfahren zum Nachweis des Rheumafaktors
mittels Streulichtmessung der Grenzschicht zwischen
Patientenserum und Gammaglobulin.
Z. Rheumaforschung 17: 206-214, 1958

KLOSTERKÖTTER, W. u. D. NOLTE

Quarzflockungstest bei primärchronischer
Polyarthrititis und anderen Erkrankungen.

Klin. Wschr. 38:179-182, 1960

KLOSTERKÖTTER, W., MANITZ, G. u. W. STROBEL

Latex-Tests und Quarzflockungstest bei
Lebererkrankungen.

Med. Welt 962-966, 1962

KÜHN, H.A. u. J. WEINREICH

Immunologische Probleme bei chronischer Hepa-
titis und Leberzirrhose.

Dtsch. Med. Wschr. 723-730, 1964

KUNKEL, H.G., FRANKLIN, E.C. and MÜLLER- EBERHARD, H.J.

Studies on the isolation and characterization of the
"rheumatoid factor".

J. Clin. Incest. 38:424-434, 1959

KUNKEL, H.G., SIMON, H.J. and FUDENBERG, H.

Observations Concerning Positive Reactions for
Rheumatoid Factor in Certain Patients with
Sarcoidosis and Other Hyperglobulinamic States.
Arthrit. u. Rheum. 1: 289-296, 1958

LAURELL, A.B. and GRUBB, R.

Complement, complement components, properdin
and agglutination promoting factors in rheumatoid
arthritis.

Acta.path. microbiol. scand. 43: 310-320, 1958

LAWRENCE, J.S., LANE, V.A. and DE GRAAF, R.

The epidemiologie of rheumatoid arthritis in
northern Europe.

Proc. Roy. Soc. Med. 54: 454-462, 1961

LINDNER, H., TAUBNER, A., SACHS, U. u. G. KLEIN

Rheumaserologische Befunde bei akuten und
chronischen Lebererkrankungen.

Med. Welt 17: 957-961, 1962

LOSPALLUTO, J. and ZIFF, M.

Chromatographic studies of the rheumatoid factor.

J. Exp. Med. 110: 169-186, 1959

MANNIK, M. BRINE, K.L. and CLARK, W.S.

Observations Concerning the Reactivity of Normal and Rheumatoid Gamma Globulins in Rheumatoid Serologic Reactions.

Arthr. & Rheum. 5: 410-418, 1958

MARKS, J. and COOMBS, R.R.A.

The conglutinin phenomenon XI. Immunoconglutinin in human sera.

J. Hyg. (London) 55: 81-90, 1957

MATTHIES, H. u. S. FÜRNROHR

Die Treffer- und Fehlerquote des Latex-Tropfentestes bei Verwendung von Vollserum, Euglobulinfraktion und Kältepräzipitat.

Klin. Wschr. 40: 740-744, 1962

MC.CLUSKEY, R. ,MILLER, F. and BENACERRAF, B.

Sensitization to denatured autologous gamma-globulin.

J. Exp. Med. 115: 352-358, 1962

MELLORS, R.C., NOWOSLAWSKI, A., KORNGOLD, L. and SENGSON, B.

Rheumatoid factor and the pathogenesis of rheumatoid arthritis.

J. Exp. Med. 113: 475-484, 1961

MEYER, K.

Über Hämagglutininvermehrung und hämagglutinationsfördernde Wirkung bei menschlichen Seren.

Z. Immun. Forsch. 34: 229-233, 1922

MEYER ZUM BÜSCHENFELDE, K.H.

Immunpathologische Sekundärphänomene bei Lebererkrankung

2. Lebersymposium in Vulpera, S. 133-140, 1966

MEYER ZUM BÜSCHENFELDE, K.H., GAMP, A. u. F. SCHILLING
Immunpathologische Begleiterkrankungen und -phänomene
des Lupus erythematodes.

Klin. Wschr. 43: 892-898, 1965

MEYER ZUM BÜSCHENFELDE, K.H., HOPF, U. u. V. BOKISCH
Über Antigammaglobulinfaktoren bei Lebererkrankungen.

Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. S. 683-688, 1966

MEYER ZUM BÜSCHENFELDE, K.H. u. H.J. LANGE
Statistische Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen
immunpathologischen Sekundärphänomenen bei Leberer-
krankungen.

Archiv Klin. Med. 213: 26-47, 1966

MIEHLKE, R., KRUPPA, K.H. u. J. SCHIMANSKI

Die serologischen Reaktionen zum Nachweis des Rheumafaktors

Münch. Med. Wschr. 102: 382-386, 1960

MIEHLKE, K. u. J. SCHIMANSKI

Die Agglutinationsreaktion zur Bestimmung des Rheuma-
faktors und ihr Wert für die Diagnose der chronischen
rheumatoiden Polyarthrititis.

Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 65: 368-371, 1959

MILGROM, F. and WITEBSKY, E.

Studies on the rheumatoid and related serum factors.

I. Autoimmunization of rabbits with gamma globulin.

Jama 174: 56-63, 1960

MÜLLER, W.

Die Serologie der chronischen Polyarthrititis.

Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1962

MÜLLER-EBERHARD, H.J.

Der Rheumafaktor

Dtsch. Med. Wschr. 84: 719-723, 1959

MÜLLER-EBERHARD, H.J. and KUNKEL, H.G.

Isolation of a thermolabile serum protein which
precipitates gammaglobulin aggregates and participates
in immune hemolysis.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 106: 291-295, 1961

MÜLLER-EBERHARD, H.J., KUNKEL, H.G. u. E.C. FRANKLIN

Das Vorkommen eines ungewöhnlichen Gamma-Globulin-Komplexes in Seren Rheumakranker.

Verh. Dtsch. Ges. Inn.Med. 63:642-646, 1957

PELTIER, A. and CHRISTIAN, C.L.

The presence of "rheumatoid factor" in sera from patients with syphilis.

Arthr.& Rheum. 2: 1-7, 1959

POLISH, E. and MUSCHEL, L.

Rheumatoid factor and complementfixing tissue antibodies in patients with liver disease.

Amer. J. Dig. Dis. 7:677-686, 1962

ROSE, H.M., RAGAN, C., PEARCE, E. and LIPMAN, M.O.

Differential agglutination of normal and sensitized sheep erythrocytes by sera of patients with rheumatoid arthritis.

Proc., Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 68: 1-6, 1948

SCHEIFFARTH, F.

Diskussionsvortrag zum Gesamthema I (Kollagenkrankheiten)

Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 65: 151-157, 1959

SCHEIFFARTH, F.u.H. WARNATZ

Die Pathogenese der chronischen Hepatitis als immunologisches Problem.

Klin. Wschr. 43: 473-479, 1965.

SCHIERZ, G.

Ausführung und Beurteilung des Latextropfentestes zur Diagnose der primär chronischen Polyarthritis.

Münch. Med. Wschr. 103: 268-271, 1961

SINGER, J.M. and PLOTZ, C.M.

Latex fixation test. I. Application to serologic diagnosis of rheumatoid arthritis.

Amer. J. Med. 21: 888-892, 1956

SINGER, J.M. and PLOTZ, C.M.

The Latex Fixation Test for Rheumatoid
Arthritis Using Patients Own Gamma Globulin.
Arthr. & Rheum. 2: 142-146, 1958

SINGER, J.M., PLOTZ, C.M., PERALTA, F.M. and LYONS, H.C.

The presence of antigammaglobulin factors in sera
of patients with activ pulmonary tuberculosis.
Ann. Int. Med. 56: 545-552, 1962

SVARTZ, N.

Serologische Diagnostik bei Kollagenkrankheiten.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 65: 147-150, 1959

SVARTZ, N. and SCHLOSSMANN, K.

Cold precipitable haemagglutinating factor in serum
from patients with rheumatoid arthritis.
Ann. Rheum. Dis. 14: 191-194, 1955

TURNER, P., IHA, V.N., CROWLEY, N. and SHERLOK, Sh.

Haemagglutination in acute hepatitis and other disease.
J. Clin. Path. 15: 491-493, 1962

VAUGHAN, J.H.

Autoreactivity in a serum exhibiting iso-
specifity in the Gm-system.
Arthr. & Rheum. 5: 663-669, 1962

WAALER, E.

On the occurrence of a factor in human serum
activating the specific agglutination of sheep
blood corpuscles.
Acta Path. Microbiol. Scand. 17: 172-188, 1940

WALLER, M., TOONE, E.C. and VAUGHAN, E.

Study of Rheumatoid Factor in a normal population.
Arthr. & Rheum. 7: 513-520, 1964

WEINREICH, J. u. H.A. KÜHN

Der Latextropfentest (LTT) bei Lebererkrankungen.
Acta Hepato-Splenologica 1: 44-50, 1965

WEITZE, H. u. D. JORKE

Die Hämagglutinationsreaktion mit Rhesusaffen-
erythrozyten.

Münch. Med. Wschr. 7: 382-386, 1966

WILLIAMS, R. C. and KUNKEL, H.C.

Seperation of Rheumatoid Factors of
Different Specificities Using Columns
Conjugated with Gamma Globulin.

Arthr. & Rheum. 6: 665-675, 1963

ZIFF, M., BROWN, P., LOSPALLUTO, J., BADIN, J.
and MC EWEN, C.

Agglutination and Inhibition by serum globulin in the
sensitized sheep cell agglutination in rheumatoid
arthritis.

Amer. J. Med. 20: 500-509, 1956

Lebenslauf

Am 6. 9. 1941 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Dr. Gerhard Hopf und seiner Ehefrau Gerda Hopf, geb. Lange, in Leipzig geboren. Von 1948 bis 1955 besuchte ich die Grundschule in Leipzig, anschließend für weitere vier Jahre die Oberschule. 1959 legte ich an der Leibniz-Oberschule in Schkeuditz bei Leipzig die Reifeprüfung ab. Da mir der Zugang zum Medizinstudium verwehrt wurde, nicht zuletzt wegen meiner zum Staate in Widerspruch stehenden ideologischen Anschauung, verließ ich im März 1960 die SBZ. Nach der Teilnahme an einem sechsmonatigen Kursus am Gymnasium in Delmenhorst erlangte ich die bundesdeutsche Hochschulreife. Ich immatrikulierte mich noch im Wintersemester 1960/61 zum Medizinstudium an der Johannes - Gutenberg - Universität Mainz, wo ich nach dem Sommersemester 1966 das Staatsexamen ablegte. Im Februar 1967 trat ich eine Medizinalassistentenstelle am St. Elisabeth- Krankenhaus in Jülich an. Geheiratet habe ich im Mai 1965.

Uwe Hopf

517 Jülich, den 20.5.67
Neußer Str. 8

